

BULLETIN

DE LA

Société de Pathologie exotique

SÉANCE DU MERCREDI 12 JUILLET 1933

PRÉSIDENCE DE M. THIROUX, VICE-PRÉSIDENT

Election d'un membre titulaire.

M. P. NICOLLE est élu membre titulaire de la Société.

Commission de la Médaille d'Or.

Cette Commission comprendra, outre les Membres de droit, MM. BOUET, BRIDRÉ, DOPTER et MATHIS, élus en séance.

Modifications au Règlement.

Sans toucher aux statuts de la Société, la Commission, nommée à la séance du mois de mai et composée de MM. MARCHOUX, MESNIL, DUJARDIN-BEAUMETZ, BOUFFARD, ROUBAUD, MARCEL LEGER, propose quelques modifications au règlement.

Le nouveau règlement, après observations de MM. LAUNOY,

Bull. Soc. Path. Ex., n° 7, 1932.

NATTAN-LARRIER, E. MARCHOUX, MARCEL LEGER, THIROUX, est mis aux voix et adopté. Il sera publié *in extenso* dans le *Bulletin* du mois d'octobre. Voici les modifications essentielles :

TITRE I : *Composition de la Société.* — Nombre des titulaires porté de 40 à 80. Membres associés français et correspondants français, devenant de droit titulaires honoraires ou titulaires suivant qu'ils ont plus ou moins de 9 ans d'exercice. Nombre des associés étrangers porté de 20 à 25 ; des correspondants étrangers, de 120 à 125.

TITRE IV : *Publications.* — Les communications ne doivent pas dépasser 6 pages d'impression ; les mémoires, 10 pages ; ces derniers ne sont publiés qu'après avis favorable du bureau, dans le *Bulletin* du mois ou dans celui des mois suivants.

Les figures, planches et tableaux sont soumis à l'examen du bureau, la Société se réservant d'en assurer les frais ou d'en réclamer le montant aux auteurs.

TITRE VI : *Élections.* — Deux fois par an, en juin et en décembre, élection des membres titulaires, la liste de présentation étant établie par une commission nommée en avril et en octobre. Ne peuvent figurer sur cette liste que ceux ayant fait acte de candidature par écrit et envoyé un exposé de leurs titres qui comprendra au moins une communication antérieure à la Société. Pour que les élections soient valables, l'Assemblée doit réunir plus de 30 membres d'honneur, titulaires honoraires ou titulaires.

TITRE IX : *Contributions.* — A partir de janvier 1934, la cotisation annuelle de tous les membres titulaires et titulaires honoraires est portée à 30 francs.

A partir de la même date, le rachat des cotisations est porté de 200 à 300 francs pour les titulaires et de 100 à 150 francs pour les titulaires honoraires.

Le droit d'entrée à la Société sera désormais de 30 francs au lieu de 10 francs.

Présentation d'ouvrage.

M. MARCEL LEGER. — Je dépose sur le bureau, au nom de notre collègue Ed. BENHAMOU (d'Alger), le livre qu'il vient de publier : *L'exploration fonctionnelle de la Rate. Diagnostic et traitement des syndromes spléniques.*

C'est la mise au point, patiente, documentée, et parfaitement réussie, d'une question encore obscure de pathologie générale, qui intéresse de manière spéciale les physiologistes et les médecins des pays tropicaux.

Les multiples fonctions de la rate, fonction réservoir, fonction hématopoïétique, fonction réticulo-endothéliale ont été explorées de façon méthodique. On peut ainsi aborder sous un angle nouveau les lésions de l'organe, qu'il s'agisse de splénomégalie primitive, d'anémie splénique, d'ictère hémolytique, de purpura, de syndromes spléniques au cours du paludisme, de la leishmaniose viscérale, des fièvres récurrentes ou autres infections.

Des exemples bien choisis, ainsi que 103 excellentes figures originales et des schémas personnels, montrent comment on utilise la radiologie et les épreuves de spléno-contraction pour poser un diagnostic précis et conduire le traitement dans de bonnes conditions.

Le livre de BENHAMOU a reçu de MM. MASSON et Cie, éditeurs, une présentation de premier ordre qui ajoute encore à la clarté des 255 pages du texte.

Communications

Remarque à propos de la communication

de MARCEL LEGER sur les cas de *Pestis levissima*,

Par E. DUJARDIN-BEAUMETZ.

Je voudrais, à propos de l'intéressante communication de notre collègue, faire la remarque suivante.

Doit-on craindre que les sujets atteints d'une peste aussi bénigne et ayant conservé toutes les apparences de la santé puissent être l'origine d'une contagion interhumaine? Ne suffit-il pas, en effet, qu'une puce ingère un seul bacille pesteux pour qu'elle devienne infectante du fait de la pullulation microbienne qui se produit dans son tube digestif et qui détermine le blocage de son proventricule?

Pour ma part, je ne crois pas à ce danger et en voici la raison. La capacité de l'estomac d'une puce est approximativement, d'après la Commission anglaise, d'un demi-dixième de millimètre cube (1), ce qui, en d'autres termes, équivaut au 20.000^e de centimètre cube. Par conséquent, pour qu'une puce devienne pestigène, il faut que le sang, dont elle se nourrit, contienne au moins 20.000 germes par centimètre cube. Je doute qu'une pareille bacillémie soit compatible, chez l'homme, avec un état de santé bien satisfaisant.

On pourrait, il est vrai, faire intervenir dans ce calcul le nombre des puces qui peut atteindre un chiffre élevé. En supposant, par exemple, que le sang d'un sujet atteint de peste ambulatoire contienne 20 germes par centimètre cube — ce dont on n'a d'ailleurs aucunement la preuve — on arrive à cette constatation que, sur 1.000 puces qui l'auront piqué, une seule d'entre elles sera susceptible de transmettre la peste.

Le danger de contamination que présentent ces cas de peste très bénigne reste donc bien aléatoire.

Je crois, d'autre part, utile de rappeler quelle peut être, dans le sang du pesteux, sa teneur en germes. Elle est très variable. Le

(1) Il y a lieu de rectifier dans l'analyse faite dans le *Bulletin de l'Institut Pasteur*, t. V, 1907, p. 988, le chiffre de 5 dixièmes de millimètre cube, soit $1/2 \text{ mm}^3$; il est inexact. En réalité la capacité de l'estomac de la puce est 10 fois moindre.

chiffre de 20.000 auquel j'ai fait allusion ne s'observe qu'à la période terminale de la peste bubonique. Souvent le sang des moribonds contient 2.000 à 3.000 germes par centimètre cube. Parfois même, 2 h. avant la mort, le 1/10^e de centimètre cube de sang reste stérile, ce qui revient à dire que le sang contient moins de 10 germes par centimètre cube. Dans les cas de septicémie, le nombre des bacilles pesteux peut dépasser plusieurs millions.

Par contre, chez le rat, un pourcentage de 100 millions à 1 milliard est fréquemment observé.

En citant ces chiffres, dont la plupart sont empruntés aux rapports de la Commission anglaise (2), j'ai voulu apporter quelques précisions sur la quantité de bacilles pesteux circulant dans le sang qui est nécessaire pour qu'une puce devienne infectante, à la condition également que cette puce appartienne à une espèce chez laquelle se produit le blocage proventriculaire.

MARCEL LEGER. — Les remarques judicieuses de notre savant collègue DUJARDIN-BEAUMETZ sur la capacité de l'estomac de la puce donnent à réfléchir. Mais les calculs des distingués expérimentateurs de la *Commission anglaise des Indes* répondent-ils à une réalité au point de vue de la transmission de l'infection à bacilles de YERSIN ?

Tous ceux qui ont eu l'occasion de suivre une épidémie de peste en vérifiant par ailleurs chaque jour l'état d'infection des Muridés arriveront à cette conclusion que l'épidémie serait vite arrêtée si seuls les rats présentant non de la bactériémie mais une vraie septicémie étaient dangereux par leurs puces.

Au Sénégal, lors de la bouffée épidémique d'avril à décembre 1921, le nombre des rats trouvés porteurs de bacilles de YERSIN a varié entre 5 et 20 0/0 suivant les mois considérés : il s'agissait de rats capturés ou de rats crevés recueillis par le Service d'Hygiène de la ville. Or, dans l'immense majorité des cas, plus de 9 fois sur 10, les bacilles étaient trouvés sur frottis très rares ou rares. Il n'y aurait donc pas plus de 1 rat sur 100 ayant assez de germes en circulation dans le sang pour infecter les puces abritées dans leur pelage.

M. DUJARDIN-BEAUMETZ ne croit pas au danger des sujets atteints de *Pestis levissima* parce qu'ils ne peuvent avoir (et pourquoi pas ? si l'on admet l'hypothèse très logique de P. DURAND), parce qu'ils

(2) Reports on plague investigations in India. *The Journal of Hygiene*, vol. VII, july 1907, p. 395. *Id.*, vol. VI, september 1906, p. 519 et p. 524. *Id.*, vol. VIII, may 1908, p. 221.

ne peuvent avoir, dis-je, plus de 20.000 bacilles pesteux par centimètre cube de leur sang.

On devrait alors rejeter, pour la même raison, le rôle dans la transmission de la peste des rats « porteurs chroniques » du bacille de YERSIN, dont le sang, à l'examen, n'est souvent trouvé infectieux qu'après hémoculture. C'est cependant par ces animaux « porteurs chroniques » que la *Commission anglaise des Indes* explique le maintien dans le pays de l'endémicité pesteuse.

En somme, la transmission par les puces deviendrait exceptionnelle, en acceptant les calculs rapportés par DUJARDIN-BEAUMETZ. Et alors ?

La Prémunition antituberculeuse par le B. C. G. à Dakar,

Par M. BLANCHARD.

Tous ceux qui ont pratiqué aux colonies savent l'extrême difficulté de l'adaptation des règles de la prophylaxie antituberculeuse au milieu indigène dans lequel l'individu, trop souvent incompréhensif de sa propre sauvegarde, ne voit que vexations dans les mesures d'isolement, de désinfection, de prévention générale que l'hygiéniste lui propose ou tente de lui imposer.

C'est ainsi, il faut bien le dire, que si on perce la façade de notre édifice antituberculeux, il n'y a par derrière, ici comme ailleurs, que des réalisations bien minimes pour lutter contre la maladie déclarée et cela malgré les tenaces et constants efforts du Service de santé secondés par le Gouvernement de la Colonie.

Par contre, la prémunition par le B. C. G. (1) a apporté à cette lutte l'arme de beaucoup la plus effective et la plus efficace, comme les résultats suivants permettent d'en juger.

Cette prémunition a été, jusqu'à présent, conduite par le Dispensaire d'Hygiène sociale de Dakar, rattaché à l'Ecole de Médecine et ce sont tous mes prédécesseurs, en particulier le docteur Couvy, qui en ont assuré la direction et l'extension.

Mais, dans cette œuvre sociale de premier plan, la direction est acte minime si on la compare à l'exécution. Tout le mérite de celle-ci revient exclusivement comme nous l'avons déjà dit à nos Infirmières-Visiteuses. Toutes ont fait preuve du plus généreux dévoue-

(1) Le B. C. G. est fourni par l'*Institut Pasteur* de Dakar.

ment que l'une d'elles, Mme DEBŒUF, est cependant parvenue à dépasser, atteignant la perfection dans le rendement de son service.

*
* *

STATISTIQUES MISES A JOUR AU 31 DÉCEMBRE 1932

I. — *Prémunis*

(Enfants nés à Dakar, en ville ou à la Maternité
et déclarés à l'Etat Civil de Dakar).

Années	Nombre des prémunis	Décédés dans le 1 ^{er} mois	Décédés dans les 5 mois suivants	Décédés de 6 à 12 mois	Décédés après 1 an	Total	Pourcen- tage
1928	721	38	32	28	108	206	28,57
1929	797	46	56	28	68	198	24,15
1930	1.002	32	55	34	65	186	18,56
1931	1.196	21	27	21	12	81	15,08
1932	1.453	30	24	11	»	65	4,47
	5.169	167	194	122	253	736	
			316				

II. — *Non prémunis*

(Enfants nés dans les villages de la Circonscription de Dakar
et déclarés à l'Etat Civil).

Années	Nombre des non- prémunis (1)	Décédés dans le 1 ^{er} mois	Décédés dans les 5 mois suivants	Décédés de 6 à 12 mois	Décédés après 1 an	Total	Pourcen- tage
1928	215	49	11	5	20	85	39,53
1929	382	72	19	8	31	130	34,05
1930	377	74	12	16	19	121	32,09
1931	251	39	4	17	16	76	30,27
1932	478	42	31	18	»	91	19,03
	1.703	276	77	64	86		
			141				

(1) Les chiffres additionnés, par années, de ces deux colonnes correspondent au total des naissances enregistrées à l'Etat Civil, déduction faite des naissances d'européens qui ont eu lieu à la Maternité de l'Hôpital Principal.

Le taux de la mortalité globale chez les prémunis et les non-prémunis reste le seul test utilisable pour juger de l'efficacité de la prémunition. Il est en effet impossible d'établir avec exactitude le nombre des décès ressortissant à la tuberculose parmi les innombrables causes de la mortalité infantile.

COUVY, recherchant en 1930 « les résultats probables de la prémunition des enfants nés du 1^{er} novembre 1927 au 1^{er} novembre 1928, constate que chez les non-prémunis la mortalité globale a la même incidence qu'en 1930, soit 25 o/o entre 10 jours et 2 ans, tandis que les prémunis n'ont fourni que 16 o/o de décès pendant la même période.

Les tableaux ci-dessus exposent avec plus de détails pour les années suivantes la même étude comparative.

Remarques sur quelques souches de vibrions cholériques
isolés en Indochine et sur les variations
de leurs caractères sous l'influence du bactériophage.

(2^e note),

Par P. NOËL BERNARD, J. RAYNAL et WANG LIANG.

Dans une note précédente nous avons exposé quelques remarques sur les variations présentées par les caractères de 16 souches de vibrions cholériques d'origine indochinoise sous l'influence du bactériophage. Ce travail avait pour but de rechercher si les résultats obtenus en 1932 par W. DOOREMBOS (1) à Alexandrie sur la reproduction expérimentale de ces variations se vérifiaient pour les vibrions cholériques isolés en Indochine.

F. D'HÉRELLE (2) avait déjà montré, en 1929, qu'il est possible, par l'action du bactériophage, d'obtenir, *in vitro*, sur des germes ultra-purs tout récemment isolés des selles cholériques les modifications profondes que l'on observe dans l'intestin des malades relativement à la mobilité, la morphologie, les caractères fermentatifs, le pouvoir réducteur, le pouvoir hémolytique, l'agglutination, la virulence.

Nos expériences antérieures avaient confirmé, sur 16 souches iso-

(1) W. DOOREMBOS. *Etude sur la symbiose du vibron cholérique avec le bactériophage*. Alexandrie, 1932.

(2) D'HÉRELLE, MALONE (R. H.) et LAHIRI (M. N.). *Etudes sur le choléra*. Alexandrie, 1929.

lées en Cochinchine depuis plus d'une année, les constatations de W. DOOREMBOS relatives à l'agglutinabilité, aux caractères de culture et au pouvoir protéolytique. Il en est de même pour la réaction indol nitreuse : positive pour les 16 souches normales, elle s'est montrée pour les mêmes souches, lysées par le bactériophage, identique pour 6 d'entre elles, plus forte pour 6 et plus faible pour 4.

Restent à étudier les modifications de l'hémato-agglutination, de l'hémodigestion et de l'hémolyse sous la même influence :

Le phénomène de l'hémato-agglutination a été mis en lumière par W. DOOREMBOS (1) en 1931 au laboratoire du conseil quarantenaire d'El Tor. On ensemence le vibron à étudier sur un tube de gélose-gélatine inclinée. Après 24 h. d'étuve, on prélève une anse de culture qui est émulsionnée dans 2 cm³ d'eau salée à 0,9 o/o. On ajoute ensuite 10 gouttes d'une suspension à 5 o/o de globules sanguins lavés. Un tube d'eau salée simple, à laquelle on ajoute la même quantité de sang, sert de témoin. Après quelques minutes la suspension globulaire prend une teinte violacée et commence à agglutiner en petits flocons qui tombent rapidement au fond du tube. Dans les tubes témoins, le sang conserve sa couleur rouge initiale et dépose au fond du tube sans floculation.

Nous envisagerons l'hémodigestion et l'hémolyse telles que les définit VAN LOGHEM (2) — l'hémodigestion c'est-à-dire l'action de décomposer l'hémoglobine : celle-ci est dégradée en hématine avec destruction de sa substance albuminoïde — l'hémolyse c'est-à-dire l'action de faire sortir l'hémoglobine des globules rouges.

Pour VAN LOGHEM, le vibron cholérique est hémodigestif à l'état normal mais il ne produit jamais d'hémolysine, dans le sens d'exohémolysine. « Tout au plus, dit-il, remarque-t-on dans de vieilles cultures en bouillon au sang une hémolyse faible ; j'ai pu démontrer que cette hémolyse tardive est fondée sur une hémolysine qui est thermostable et non antigène et qu'elle est renforcée par le bactériophage. Il est donc évident qu'on a affaire à une endohémolysine. L'exohémolysine au contraire, est produite par nombre de vibrions non cholériques ».

Sensibilité des souches de vibrions à l'action du bactériophage.

— Trois principes lytiques différents ont été expérimentés : l'un provenant de l'Assam et dû à l'obligeance du docteur W. DOOREMBOS, les deux autres isolés par nous au laboratoire. Ils ont provoqué tous les trois une lyse transmissible avec chacune des 16 souches de

(1) W. DOOREMBOS. *Le phénomène de l'hémoagglutination par le vibron cholérique*. Leyde, 1931.

(2) VAN LOGHEM. Sur la variabilité du vibron cholérique. *Congrès international de microbiologie*, 1930, t. I, p. 211.

vibrions indochinois. Nous avons retenu le plus actif qui avait été isolé au laboratoire.

1 cm³ d'une émulsion, fortement opalescente en bouillon, du vibron à étudier étaitensemencé dans deux tubes contenant chacun 15 cm³ de bouillon ordinaire. A l'un de ces tubes une goutte de bactériophage était ajoutée. Après 2 h. d'étuve, le bouillon devenait limpide dans le tube en expérience tandis que le trouble du tube témoin s'accroissait fortement. Une culture secondaire apparaissait macroscopiquement entre 10 et 40 h.; 6 h. et 24 h. après la lyse complète, quelques gouttes étaient prélevées dans le fond des tubes lysés etensemencées sur gélose inclinée. Les colonies de ces cultures, habituellement rugueuses et de contour irrégulier, étaient utilisées pour les réactions sur les globules sanguins.

Pour la commodité de la rédaction, nous désignerons ces souches contaminées prélevées après 6 h. par la notation B6, celles prélevées après 24 h. par la notation B24.

Hémoagglutination. — En présence de globules rouges de mouton, les 16 souches pures donnaient une hémoagglutination très nette et à peu près uniforme. Parmi les souches ayant subi la lyse transmissible : 1° les souches B6 présentaient une hémoagglutination identique dans 10 cas, plus forte dans 5 cas, plus faible dans 1 cas; 2° les souches B24 une hémoagglutination identique dans 11 cas, plus forte dans 4 cas, plus faible dans 1 cas.

Hémodigestion. — Ce phénomène a été observé sur des tubes de gélose-sang de lapin : les 16 souches pures avaient toutes un pouvoir hémodigestif très net, avec quelques différences individuelles dans la dimension du halo translucide qui entourait les colonies. Par rapport aux souches d'origine, le pouvoir hémodigestif des cultures contaminées était identique dans 9 cas, plus faible dans 7 cas pour les souches B6, identique dans 7 cas et plus faible dans 9 cas pour les souches B24.

Hémolyse. — L'hémolyse a été observée sur des globules rouges de mouton, en suspension dans l'eau salée à 9 0/00, suivant la technique indiquée plus haut pour l'étude de l'hémoagglutination.

Pour permettre de juger comparativement de la rapidité et de l'intensité de la réaction, 3 souches de vibrions d'El Tor ont été utilisées en plus des témoins ordinaires.

L'expérience a été répétée deux fois à trois semaines d'intervalle avec 51 souches : 16 souches pures, 16 souches additionnées de bactériophage etensemencées sur gélose 6 h. après la lyse (B6), 16 souches additionnées de bactériophageensemencées sur gélose 24 h. après la lyse (B24), 3 souches d'El Tor (n^{os} 6, 47, 70) dues à l'obligeance du docteur W. DOOREMBOS.

Les 16 souches pures n'ont jamais provoqué l'hémolyse des globules rouges de mouton, même après 48 h. d'étuve.

L'hémolyse apparaissait dès la 5^e h. dans les tubes additionnés de vibrions des 3 souches d'El Tor et était totale en 48 h. 4 souches sur 16 additionnées de bactériophage ont hémolysé en 24 h. les globules de mouton dans toutes les expériences. En outre, 9 autres souches ont provoqué l'hémolyse de façon inconstante au cours des deux expériences faites à trois semaines d'intervalle.

L'action sur les globules rouges de 16 souches de vibrions cholériques, d'origine indochinoise, modifiées dans leurs caractères par le bactériophage, peut donc se résumer ainsi :

1° Elle ne modifie pas sensiblement le phénomène de l'hémoagglutination des globules de mouton ;

2° Elle atténue le pouvoir hémodigestif sur le sang de lapin pour la moitié des souches ;

3° L'hémolyse, nulle pour les souches pures sur les globules de mouton, devient un caractère constant pour 4 souches sur 16 sous l'influence du bactériophage et un caractère variable pour 9 autres souches.

CONCLUSION

Il résulte de l'ensemble de nos observations que, sur 16 souches de vibrions cholériques d'Indochine répondant aux caractères d'authenticité exigés pour le diagnostic bactériologique de ce germe, un certain nombre de vibrions ont pu être transformés, *in vitro* sous l'influence du bactériophage, de vibrions agglutinables en vibrions non agglutinables, de vibrions à réaction indol-nitreuse normale en vibrions à réaction forte, de vibrions présentant un pouvoir protéolytique fort en vibrions présentant un pouvoir protéolytique faible, de vibrions non hémolytiques en vibrions hémolytiques.

Il suffit que de telles variations se manifestent sur certains germes et soient susceptibles de les classer parmi les vibrions non cholériques pour que l'importance de l'action du bactériophage reste acquise au point de vue pratique du diagnostic rapide exigé du laboratoire, au cours d'une épidémie de choléra. C'est à ce seul point de vue que nous nous sommes placés au cours de cette étude.

En partant de cultures atypiques obtenues par l'isolement de germes ainsi modifiés, il convient donc de faire des ensemencements en série pour voir apparaître, au milieu de colonies développées par des vibrions qui ont subi ces variations, des colonies de vibrions purs qui présentent tous les caractères généralement exigés pour la détermination d'un vibron cholérique authentique.

Traitement du choléra par les injections intraveineuses de solution chlorurée hypertonique et de gonacrine.

Par C. MASSIAS.

A la séance du 23 mai 1929 de la *Société médico-chirurgicale de l'Indochine* (*Bulletin*, t. VII, pp. 251-254), à propos du syndrome d'hypochlorémie, j'écrivais que « l'importance de la perte de chlore chez les cholériques est telle qu'il est classique de leur injecter du chlorure de sodium, mais j'ai l'habitude de leur injecter une solution hypertonique à 10 ou 20 o/o, la perte de chlore étant plus importante que la perte d'eau, si on veut agir d'extrême urgence, concurremment avec l'adrénaline intraveineuse ». Je rappelais les travaux de LÉON BINET (1) publiés en 1927 et 1928 sur la rechloruration au cours de certains troubles digestifs : vomissements, diarrhée profuse, occlusion qui amènent une baisse rapide des chlorures sanguins.

Depuis 1929 j'ai traité tous les cas de choléra par les injections intraveineuses de NaCl en solution hypertonique à 20 o/o. Ma note de 1929 a dû passer inaperçue.

A la *Société Médico-Chirurgicale de l'Indochine* (t. IX, 1931, n° 10, pp. 843-847) sous le titre « Un nouveau traitement des diarrhées cholériformes et éventuellement du choléra », à la *Société de Pathologie exotique* (*Bulletin*, t. XXV, 9 mars 1932, pp. 196-199) dans une « Note thérapeutique sur le traitement des diarrhées cholériformes et éventuellement du choléra », M. DE RAYMOND a préconisé les injections de NaCl à 300 o/oo.

Le traitement d'urgence que j'institue depuis 1929 pour tout individu présentant des signes de choléra est le suivant : injection intraveineuse de 20 cm³ d'eau salée à 20 o/o dès que les premiers symptômes sont constatés, cette injection est renouvelée 12 h. après, s'il y a des vomissements abondants et une diarrhée profuse. 24 h. après la première, une injection de même quantité d'eau salée à 20 o/o. Ces deux ou trois injections suffisent pour atténuer et même arrêter immédiatement la spoliation aqueuse et chlorée provoquée par les évacuations digestives et rétablir la diurèse. La rechloruration et la réhydratation peuvent être ensuite continuées par l'eau physiologique en injection sous-cutanée.

Depuis 1932, d'après la pratique de M. DE RAYMOND (Note thérapeutique sur le traitement des syndromes cholériformes par la

(1) BINET (LÉON). *Bull. Société médicale des Hôpitaux de Paris*, 16 novembre 1928, n° 32, p. 1582, 29 avril 1932, n° 15, pp. 605-610.

trypaflavine. *Bull. Soc. Path. exot.*, 12 novembre 1931, t. XXIV, pp. 783-786), j'ajoute les injections intraveineuses de gonacrine à 5 o/o, à la dose de 5 cm³. L'injection est faite aussitôt après celle d'eau salée hypertonique. Le lendemain, la gonacrine peut être renouvelée. Deux injections suffisent. En outre j'utilise la caféine, le camphre, l'adrénaline intramusculaire et les boissons chaudes. Je ne fais plus d'adrénaline intraveineuse.

Ce traitement combiné, rechloruration et gonacrine, m'a donné les meilleurs résultats. Il a abaissé la mortalité du choléra à 22 o/o. Il doit être institué d'extrême urgence. L'absence d'épidémie ne m'a permis de traiter en 1932-1933 que 17 cas.

Hôpital de Soctrang, Cochinchine.

Étude sur la lèpre oculaire murine,

Par R. GUILLIN et E. MONTASTRUC.

L'atteinte du globe oculaire par le bacille de HANSEN est connue depuis toujours. Les manifestations oculaires de la lèpre humaine sont excessivement fréquentes. Tous les auteurs ont insisté sur ce fait.

Les lésions lépreuses se localisent surtout sur la partie antérieure du globe oculaire (cornée, limbe scléro-cornéen, muscles et procès ciliaires, iris). PHILIPSON, LIE, FRANCK et DELBANCO, BADES, MITSUDA, SUGAI et MASSAKI, GYOTOKU, ont démontré, par des études histologiques de nombreux cas, que l'atteinte des parties postérieures de l'œil était rare.

Dans un travail récent, MURORE UCHIDA publie des études histologiques portant sur 64 yeux et 43 patients (48 yeux de 34 cas de lèpre tuberculeuse et 16 yeux de 9 cas de lèpre nerveuse) et montre que les lésions des parties postérieures de l'œil sont relativement fréquentes. Mais l'auteur ajoute que toutes ces lésions des parties postérieures du globe oculaire étaient, sauf dans un seul cas, concomitantes avec des lésions des parties antérieures.

Nous avons voulu étudier sur le rat lépreux les lésions oculaires que l'on rencontre si fréquemment dans la lèpre humaine, et notre travail a compris deux séries distinctes de recherches.

RATS ANTÉRIEUREMENT INOCULÉS EN PÉRITOINE

Dans une première série nous avons examiné par coupes en série, après fixation au Bouin alcoolique, les yeux de 8 rats qui avaient

été infectés par voie sous-cutanée en novembre 1932. L'autopsie nous a révélé que l'infection de moyenne importance avait cependant atteint les ganglions et tous les organes internes.

Rat n° 1. — Inoculé dans le péritoine le 9 novembre 1932 avec 1 cm³ d'une solution dans l'eau physiologique d'un produit de broyage de léprome très riche en bacilles acido-résistants, est sacrifié.

On découvre un léprome épiploïque peu important, une rate légèrement grenue, un foie en mosaïque, pas de ganglions inguinaux, ni axillaires volumineux.

Des frottis du léprome, du foie et de la rate présentent de nombreux bacilles acido-résistants.

1^{er} mai, prélèvement des deux yeux : les coupes permettent de découvrir entre deux franges d'un processus ciliaire deux bacilles très douteux. De très nombreux examens ne permettent de trouver aucun bacille dans les procès ciliaires, ni dans les autres parties des membranes de l'œil.

Rat n° 2. — Le 6 mai, un deuxième rat de l'expérience précédente est sacrifié et est porteur d'un gros léprome épiploïque.

Les ganglions inguinaux, le léprome épiploïque, la rate, le foie, les ganglions préthoraciques présentent de nombreux bacilles acido-résistants.

Prélèvement des deux yeux : à l'examen des coupes on ne découvre aucun B. A. R.

Rat n° 3. — Le 10 mai, un troisième rat est sacrifié ; nous désignons par des croix la proportion relative des bacilles rencontrés.

Ganglions inguinaux	B. A. R. ++
Ganglions préthoraciques	B. A. R. +++
Ganglions axillaires	B. A. R. +
Léprome épiploïque	B. A. R. +++
Rate	B. A. R. ++
Foie	B. A. R. +

Les deux yeux sont prélevés et à l'examen on ne découvre aucun B. A. R.

Rat n° 4. — Un quatrième rat est sacrifié le 16 mai :

Ganglions inguinaux	B. A. R. +
Ganglions axillaires	B. A. R. +
Ganglions préthoraciques	B. A. R. +++
Rate	B. A. R. ++
Léprome épiploïque	B. A. R. +

Un œil est atteint d'une affection purulente : la sclérotique est remplie de B. A. R. particulièrement nombreux autour des vaisseaux sanguins. Dans les autres membranes et autres parties de l'œil, en particulier dans les muscles et procès ciliaires, on ne découvre aucun B. A. R.

Rat n° 5. — Un rat, inoculé par voie intrapéritonéale le 2 novembre 1932 avec 1/2 cm³ d'une solution dans de l'eau physiologique d'un nodule tuberculeux, est sacrifié le 22 mai. Au niveau des ganglions ingui-

naux, axillaires, cervicaux, du foie et de la rate, on découvre de nombreux bacilles acido-résistants.

De plus, ce rat est porteur d'un énorme léprome épiploïque dont l'examen des frottis décèle de très nombreux bacilles. Les ganglions et ce léprome servent à un broyage qui sera utilisé par une expérience ultérieure.

Les yeux de ce rat sont prélevés et leur examen les montre indemnes de B. A. R.

Rat n° 6. — Un second rat de la même série que le précédent est sacrifié le 23 mai : grosse ulcération de la paroi abdominale intéressant la peau et les muscles. Les ganglions inguinaux droits et gauches, englobés dans un magma purulent contiennent de très nombreux B. A. R. Pas de lésions macroscopiques du foie et de la rate ; les frottis de rate présentent de nombreux B. A. R.

Prélèvement des deux yeux : très mauvaise inclusion qui rend très difficile l'examen histologique de l'œil dans lequel on ne découvre pas de B. A. R.

Rats nos 7 et 8. — Deux rats provenant du même lot infecté que les deux rats précédents sont sacrifiés les 24 et 25 mai. Ils présentent de très nombreux bacilles acido-résistants dans les ganglions inguinaux, axillaires, dans le foie et dans la rate.

Leurs yeux, inclus, sont indemnes de bacilles.

De huit rats examinés, deux seuls nous ont donné un résultat positif. Chez le rat n° 1 nous n'avons rencontré que deux bacilles dans les procès ciliaires. En revanche nous avons trouvé chez le rat n° 4 une forte infection conjonctivale. Ce rat était d'ailleurs porteur d'une infection spontanée de l'œil. La présence concomitante de bacilles acido-résistants vient à l'appui de l'opinion émise déjà depuis longtemps par M. MARCHOUX au sujet de l'influence d'une infection surajoutée sur la diffusion du bacille de STEFANSKY.

RATS INOCULÉS DANS LA CHAMBRE ANTÉRIEURE DE L'ŒIL

Nous avons voulu savoir comment se développerait ou se localiserait une infection artificielle de la chambre antérieure de l'œil. A cet effet nous avons prélevé le 23 mai les ganglions inguinaux, axillaires et thoraciques du rat désigné précédemment dans le n° 5. Après broyage et traitement de la pulpe par l'acide sulfurique à 15 o/o, nous avons obtenu par centrifugation un culot qui a été lavé à l'eau distillée et repris par l'eau physiologique.

Un examen du liquide légèrement louche ainsi obtenu révèle la présence d'assez nombreux bacilles acido-résistants libres.

A l'aide d'une très fine et courte aiguille, on transperce la cornée de l'œil droit de 10 rats et on aspire l'humeur aqueuse dont le volume ne dépasse pas celui du canon de l'aiguille. En aspirant et

refoulant à plusieurs reprises, on arrive à n'inoculer en somme qu'un mélange de l'humeur aqueuse et de notre dilution dans la chambre antérieure. Il en résulte fatalement que le nombre de germes introduits est très petit.

L'examen des animaux inoculés a été fait périodiquement. Un d'entre eux, mort accidentellement, n'a pu être l'objet d'aucun examen.

Rat n° 1. — Le 29 mai un rat est sacrifié. L'œil droit est purulent. L'examen des coupes permet de découvrir de très rares bacilles acido-résistants dans les procès ciliaires; il faut parcourir une vingtaine de champs microscopiques pour découvrir un ou deux bacilles libres ou englobés par une cellule fixe. Pas de B. A. R. dans les autres parties de l'œil.

Une simple coloration fait découvrir de nombreux germes banaux de la suppuration disséminés un peu partout.

Rat n° 2. — Une femelle meurt d'avortement le 30 mai. On prélève l'œil droit qui présente une purulence de la chambre antérieure. Comme dans le rat n° 1 on découvre de rares B. A. R. dans les procès ciliaires et on n'en trouve pas dans les autres parties de l'œil.

Rat n° 3. — Un rat présentant une légère tache de la cornée dans le quadrant supérieur de l'œil inoculé, avec légère opacité profonde, est sacrifié le 6 juin.

On découvre dans cet œil des bacilles assez peu nombreux, mais un peu plus abondants que les rats n°s 1 et 2, dans les procès ciliaires et aussi dans l'iris. Légère infiltration à cet endroit de leucocytes poly et mononucléaires vides de germes. Par ailleurs aucun B. A. R.

Rat n° 4. — Le 19 juin un rat à réaction oculaire forte (opacité du cristallin) est sacrifié.

Les coupes montrent, dans le tissu assez lâche sur lequel reposent les procès ciliaires, de grosses cellules à un ou plusieurs noyaux, dont le protoplasma est bourré de paquets bacillaires. Certains champs microscopiques contiennent jusqu'à dix de ces cellules.

Rat n° 5. — Un rat à réaction oculaire forte est sacrifié le 27 juin.

Comme pour le rat n° 4 de nombreux bacilles acido-résistants existent dans les procès ciliaires, dans les mêmes cellules.

Les autres parties de l'œil ne contiennent pas de B. A. R.

Rat n° 6. — Le 30 juin un rat à forte réaction oculaire droite (opacité du cristallin) est sacrifié et l'œil est inclus.

L'examen des coupes de cet œil permet d'apercevoir à un faible grossissement, dans les procès ciliaires, d'énormes cellules chargées de bacilles lépreux.

A un fort grossissement certains champs microscopiques sont une véritable purée de bacilles acido-résistants inclus dans des cellules migratrices qui en sont littéralement bourrées.

Partout ailleurs que dans les procès ciliaires, on ne découvre aucun B. A. R.

Il résulte de l'examen de ces animaux que le virus se localise à la base des procès ciliaires où ils sont englobés par de grosses cellules, parfois géantes, dans lesquelles ils se multiplient avec une rapidité que nous ne soupçonnions pas. Du 23 mai au 6 juin, il est déjà possible d'observer une augmentation du nombre des germes qui, le 19, atteint déjà un chiffre considérable. Cette culture *in vivo*, qu'il est difficile de suivre aussi facilement ailleurs que dans la chambre antérieure de l'œil, montre en somme que le bacille de STÉFANSKY se multiplie sensiblement aussi vite que le bacille de KOCH.

Deux rats ont été conservés et seront sacrifiés dans quelques semaines afin de constater ce que deviendront les bacilles lépreux fixés et multipliés dans les procès ciliaires.

En terminant nous remercions de leurs conseils et de la direction qu'ils ont donnée à notre travail M. le professeur MARCHOUX et son chef de laboratoire M. CHORINE.

CONCLUSIONS

1° Sur des rats infectés depuis six mois nous n'en avons trouvé que deux chez lesquels l'infection avait atteint le globe oculaire ;

2° Comme l'a montré autrefois M. MARCHOUX nous avons pu constater une fois de plus qu'une infection surajoutée favorise la dispersion du bacille de STÉFANSKY ;

3° Par injections de très minimes quantités de bacilles de STÉFANSKY dans la chambre antérieure de l'œil de rats neufs, nous avons vu que l'infection se concentre à la base des procès ciliaires et que le bacille de STÉFANSKY se multiplie aussi vite que le bacille de KOCH.

Travail du laboratoire de M. le Professeur MARCHOUX.

A propos de l'hypothèse de R. MONTEL :

l'hypocholestérinémie des indigènes
cause de la rareté chez eux des syphilis cérébrales,

PAR MARCEL LEGER.

Pour expliquer les résultats meilleurs obtenus chez les paralytiques généraux par l'impaludation voie cérébrale (méthode de DUCOSTÉ) que par l'impaludation voie sanguine ou voie sous-cutanée, notre collègue et ami R. MONTEL a formulé diverses hypothèses.

Une de celles-ci doit être d'ores et déjà, à notre avis, éliminée : la corrélation entre le taux excessif de la cholestérine dans le sang et la présence d'une syphilis dite « résistante » ou « à sérologie irréductible ».

C'est KOSMADIS, je crois, qui en 1928, a lancé cette théorie; bientôt suivi par LOUSTE et MONTLAUR et par GOUGEROT et RAGU.

Mais les observations ultérieures ont contredit ces affirmations : observations de SÉZARY, de WEISSENBACH et MARTINEAU, de SCHULMANN et G. LÉVY.

La question a été portée devant la *Société de Dermatologie et Syphiligraphie*, réunion du 8 mai 1932 à Strasbourg. Un travail en particulier, celui de J. PEYROT et de BOISSEZON, a nettement établi, s'appuyant sur plusieurs centaines d'observations, que la cholestérinémie et le degré de floculation du sang chez les syphilitiques sont deux éléments parfaitement indépendants l'un de l'autre; l'ancienneté de l'infection, traitée ou non, sa complication par des lésions nerveuses n'interviennent aucunement à ce point de vue.

L'hypothèse subsidiaire de R. MONTEL de la rareté des syphilis cérébrales chez les indigènes par suite du taux diminué de la cholestérine de leur sang ne trouve plus par conséquent un appui suffisant.

Premier cas de fièvre récurrente hispano-africaine observé en Algérie,

PAR ANDRÉ SERGENT, A. MANCEAUX et R. BALLISTE. (W)

En 1923, SADI DE BUEN constate l'existence en Espagne, province de Caceres, d'une fièvre récurrente particulière due à un spirochète qu'il appelle *Treponema (Spirochaeta) hispanicum* et il démontre que l'agent de transmission est une tique, *Ornithodoros erraticus* Lucas (*O. maroccanus* Velu).

En 1928, CHARLES NICOLLE et ANDERSON, en isolant *Spirochaeta hispanicum* d'un lot d'*Ornithodoros erraticus* que VELU leur a envoyé de Mansouria (localité située entre Rabat et Casablanca), décèlent l'existence de la fièvre récurrente espagnole au Maroc. Puis cette affection est observée par des médecins marocains et notamment par HORNUS à Rabat parmi des Européens, par REMLINGER dans la zone espagnole du Maroc, par DELANOË à Mazagan. Le virus fait l'objet d'études expérimentales de CHARLES NICOLLE et ANDERSON, de REMLINGER et BAILLY, de DELANOË, de VELU.

CH. NICOLLE attire l'attention sur l'intérêt de la recherche de ce spirochète dans le reste de l'Afrique du Nord.

En 1931, CH. NICOLLE, ANDERSON et LE CHUITON observent le premier cas de fièvre récurrente hispano-africaine en Tunisie, chez un matelot électricien du bataillon de côte, dans la banlieue de Bizerte. Un deuxième cas est constaté à l'Hôpital de Ferryville, un troisième dans un faubourg de Tunis, et enfin, cette année même, deux nouveaux cas sont signalés dans la région de Menzel-Temime (Cap Bon), par CHARLES NICOLLE, J. LAIGRET et M. SICARD.

Nous rapportons ci-dessous le premier cas algérien de fièvre récurrente hispano-africaine.

P. B., 30 ans, pêcheur, d'origine italienne, a toujours habité le petit village côtier de Chiffalo, à 48 km. à l'ouest d'Alger. Il consulte l'un de nous, le 20 mai 1933, pour des accès fébriles qui auraient débuté brusquement, le 17 mai 1933, par une céphalée intense, de grands frissons et de la fièvre (40°1). Depuis trois jours, les accès sont bi-quotidiens et s'accompagnent d'une céphalée très vive. Aucun signe oculaire. La rate, non douloureuse, dépasse d'un travers de doigt le rebord costal. L'abdomen est légèrement douloureux à la palpation, les selles sont normales : pas de diarrhée, plutôt tendance à la constipation. Appareil respiratoire normal. Pas d'éruption cutanée. Le 23 mai, la température redevient normale et tous les symptômes s'amendent. Cet accès fébrile a duré sept jours, du 17 au 23 mai.

Le 29 mai, après cinq jours d'apyrexie, nouvel accès fébrile absolument semblable au premier, mais plus court : il ne dure que trois jours. Le 31 mai au soir, la fièvre a disparu et le malade n'éprouve plus qu'une grande lassitude,

Le 2 juin, après deux jours d'apyrexie, troisième poussée fébrile qui ne dure que deux jours, au cours desquels on prélève au malade, le 3 juin, du sang qui est envoyé à l'Institut Pasteur. L'examen de frottis et de gouttes épaisses colorés au Giemsa montrent la présence de nombreux spirochètes. La formule leucocytaire donne 70 polynucléaires neutrophiles, 0 éosinophile, 12 petits lymphocytes, 8 grands lymphocytes, 4 lymphocytes leucocytoïdes et 6 monocytes.

Le 4 juin, 20 cm³ de sang sont prélevés dans la veine du pli du coude pour l'inoculation aux animaux, qui est rapportée plus loin.

Le 4 juin : injection de 0 g. 18 de sulfarsénol.

Le 6 juin : injection de 0 g. 24 de sulfarsénol.

Le 13 juin : injection de 0 g. 30 de sulfarsénol.

Le 16 juin : injection de 0 g. 36 de sulfarsénol, mais le malade ayant présenté une crise nitroïde après cette injection, on arrête définitivement le traitement.

Pendant le traitement, du 4 au 16 juin, l'apyrexie est complète, mais l'asthénie est profonde et la céphalée toujours tenace et persistante.

Le 17 juin, malgré le traitement au sulfarsénol, quatrième accès fébrile (38°5). Puis la température oscille pendant quatre jours (du 17 au 21 juin) entre 37°5 le matin, et 38°4 le soir.

Depuis le 21 juin, le malade ne présente plus de nouveaux accès fébriles, mais il est asthénisé et très pâle (le 4 juillet 1933).

Etude expérimentale du virus. — Le 4 juin, 12 h. environ après la fin du troisième accès, le malade étant apyrétique et l'examen microscopique de son sang ne montrant plus de spirochètes, on lui prélève 20 cm³ de sang qui sont inoculés à la dose de 5 cm³ sous la peau de deux cobayes, et à la dose de 1/2 cm³ sous la peau de trois souris blanches. Tous ces animaux présentent rapidement une infection intense.

Les deux cobayes présentent un accès thermique et parasitaire, après une incubation de trois jours chez l'un, de quatre jours chez l'autre (1). L'accès parasitaire dure 14 et 15 jours, avec des variations dans le nombre des spirochètes. Au cours de ce long accès parasitaire, la courbe de la température dessine deux ou trois poussées thermiques de deux à cinq jours au-dessus de 40°.

Les spirochètes sont très mobiles, mesurent de 10 à 11 μ de longueur et présentent cinq tours de spire.

Le sang du cœur du cobaye 101, prélevé le troisième jour de l'accès parasitaire, est inoculé le 10 juin sous la peau de quatre cobayes, qui, après une incubation de deux jours, présentent un long accès parasitaire à nombreux spirochètes et des accès thermiques d'un type récurrent caractéristique atteignant 41°4 parfois. Plusieurs passages ont été faits et le virus a toujours conservé sa virulence initiale. Aucun cobaye n'est mort.

La souris blanche est sensible au virus de Chiffalo. Trois souris inoculées le 4 juin avec du sang du malade présentent, le 8 juin, après une incubation de quatre jours, de nombreux spirochètes dans le sang. L'accès parasitaire dure trois ou quatre jours, et est suivi de rechutes. Aucune souris n'est morte.

De très nombreux Ornithodores ont été trouvés dans des terriers de rats d'égoût, dans le village même de Chiffalo.

En résumé, cette observation montre l'existence sur le littoral algérien de la fièvre récurrente hispano-africaine, caractérisée par le haut pouvoir pathogène du spirochète pour le cobaye, le nombre et la faible durée des accès de rechute, l'inefficacité d'un traitement arsenical. On constate la présence d'Ornithodores dans les terriers de rats voisins de l'habitation du malade.

Institut Pasteur d'Algérie.

(1) La température des cobayes est prise matin et soir, le thermomètre profondément enfoncé dans le rectum. Le sang est examiné tous les matins à l'état frais et sur préparations colorées.

Phagocytose chez l'*Entamæba histolytica*,

Par A. ALEXEIEFF

On sait que pour les leucocytes il a été démontré que la phagocytose a lieu indépendamment de la formation des pseudopodes et n'est pas ainsi liée au processus de déplacement : les leucocytes fortement secoués deviennent immobiles avec une forme parfaitement sphérique et cependant, à cet état, ils ingèrent des bactéries (LEDINGHAM, 1912). Ainsi cette « ingestion » doit se ramener à un processus d'adsorption, des phénomènes tels que la tension superficielle et d'autres manifestations d'énergie de surface seuls sont à invoquer ici.

J'ai observé l'ingestion de globules rouges par l'amibe dysentérique surtout nettement à la température de 41° (cette température s'était établie depuis 30 m.).

Le déplacement des amibes à cette température était extrêmement vif, dans leur endoplasme on ne notait pas de vacuoles. Ainsi ces amibes étaient absolument normales.

Une amibe de taille moyenne, contenant un globule rouge, dans l'endoplasme, se déplace en formant un lobe ectoplasmique peu étendu ; la progression de cette amibe est assez lente. Par son côté droit — légèrement concave — notre amibe frôle un globule rouge. Aussitôt on voit se dérouler le phénomène suivant : le globule rouge s'insinue comme s'il était aspiré dans l'ectoplasme de l'amibe, prend la forme en haltère, notre globule rouge doit être comprimé pendant son passage à travers un orifice trop étroit (v. fig.). Finalement le globule rouge se trouve en plein endoplasme. CE PROCESSUS N'A DURÉ QUE QUELQUES FRACTIONS D'UNE SECONDE. On voit l'hématie s'aplatir, ensuite de nouveau s'arrondir ; ce changement de forme se reproduit trois ou quatre fois. Après cela, la forme parfaitement sphérique s'établit et l'hématie ne bouge plus.

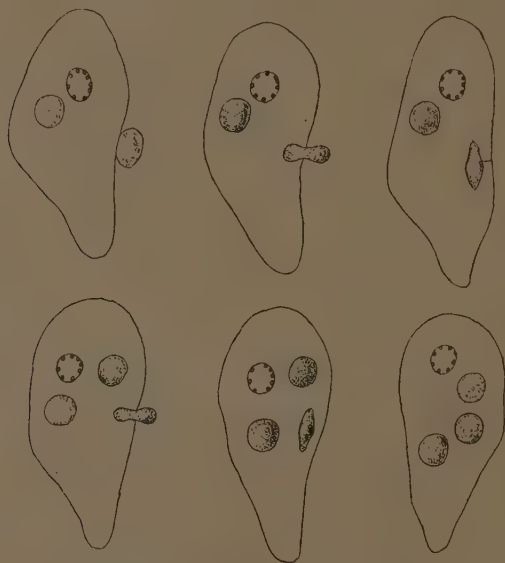
2 m. plus tard, notre amibe, pendant sa progression, touche une nouvelle hématie, tout près de l'endroit où était aspirée la première hématie. De nouveau on assiste à la succession des diverses phases d'adsorption identiques à celles que nous venons de décrire.

1 m. après, l'amibe commence à se déplacer plus rapidement ; dans son endoplasme se trouvent trois globules rouges parfaitement sphériques.

Dans la bibliographie protistologique on trouve l'indication que l'ingestion chez l'amibe dysentérique se fait par INVAGINATION, comme chez les amibes libres possédant une pellicule bien différen-

ciée. Or, ce terme emprunté à l'embryologie est assez vague ; nous allons lui apporter quelque précision.

Ce qui frappe lorsqu'on observe la phagocytose de globules rouges par l'amibe dysentérique, c'est la rapidité du processus. D'autre part on doit se poser la question suivante : à quoi attribuer ces aplatissements et le retour à la forme sphérique successifs que présente l'hématie une fois englobée.



Phagocytose d'hématies par *E. histolytica*.

Rangée supérieure, trois phases successives d'englobement d'une hématie (pour les détails voir dans le texte).

Rangée inférieure, la même amibe à m. plus tard en train d'ingérer une nouvelle hématie.

En ce qui concerne cette dernière particularité on ne peut l'attribuer à un phénomène de turgescence (avec rejet d'eau consécutive) : les changements de forme sont ici trop rapides pour qu'on puisse les rapporter aux échanges osmotiques.

On connaît en physique biologique la démonstration du « cœur mercuriel ». On place du mercure dans un cristalliseur renfermant de l'acide nitrique additionné d'acide nitreux ; on touche le mercure avec une tige de fer, la masse du mercure se rétracte rapidement (c'est la systole), puis immédiatement s'étale, et ainsi de suite. Ce

phénomène évoque les battements d'un cœur ; quelquefois le mouvement d'extension est si intense que les contours de la masse du mercure deviennent anguleux. Les pulsations de ce cœur mercuriel sont dues à ce que des décharges électriques ont lieu entre le mercure et le fer ; il en résulte un changement de la tension superficielle. La diminution de celle-ci correspond à l'expansion diastolique, ensuite la tension augmente, le mercure se ramasse sur lui-même (tend à prendre la forme sphérique).

Nous sommes convaincu que les mêmes forces sont en jeu dans notre cas : la tension superficielle du globule rouge alternativement diminue et augmente jusqu'à ce que la différence du potentiel électrique entre ce globule et l'amibe tombe à zéro.

Rappelons ici qu'on commence à tenir grand compte des phénomènes électriques dans la phagocytose exercée par les éléments du système réticulo-endothélial : n'a-t-on pas proposé d'envisager ce système comme une sorte d'anode qui attire les parcelles chargées négativement ? (1).

Ainsi nous sommes amené à conclure que le changement de la tension superficielle joue un rôle capital dans le processus d'adsorption des globules rouges par l'amibe dysentérique (2) ; mais cette modification de la tension superficielle est un processus déterminé par les décharges électriques, tout à fait comme dans le cœur mercuriel.

Seule la décharge électrique nous permet de comprendre la rapidité avec laquelle se fait l'ingestion de globules rouges chez l'*Entamoeba histolytica*, de même les déformations si singulières que présente l'hématie ingérée doivent être comparées aux pulsations du « cœur mercuriel ».

L'emploi de l'étuve à microscope d'après le modèle de Foot m'a permis d'étudier les divers modes de déplacement de l'amibe dysentérique. Je vais résumer ici ces observations (faites à l'Institut tropical de Tiflis) quitte à y revenir ailleurs d'une façon plus détaillée.

Le déplacement que l'on peut considérer chez l'*Entamoeba histolytica* comme le plus « normal » consiste en une sorte de reptation

(1) Comme on sait, les bactéries et les protozoaires représentent des corps neutres dont la charge électrique dépend du pH du milieu : positive dans un milieu faiblement acide, cette charge devient négative dans un milieu faiblement alcalin, ce qui précisément est le cas du sang et des tissus.

(2) Il doit s'agir ici d'une augmentation de la tension superficielle, contrairement à ce qui a lieu dans la formation des pseudopodes. De même, lorsqu'on touche le cœur mercuriel avec une tige de fer c'est une rétraction de la masse mercurielle que l'on note tout d'abord, c'est-à-dire la tension superficielle se trouve augmentée

sans formation d'un lobopode ectoplasmique et sans éruption herniaire d'endoplasme. Du reste chez ces individus la distinction entre l'ectoplasme et l'endoplasme fait défaut : dans tout le cytoplasme sont disséminés de petits grains mats (qui sont en réalité des vacuoles). Ce mode de déplacement a été observé dans le cas où on a placé les selles encore chaudes à la température de 33°-37°, en évitant ainsi le moindre refroidissement.

Le mode de déplacement généralement décrit — au moyen d'un lobopode hyalin — ne diffère pas du mode que nous venons de décrire, si profondément qu'on pourrait le supposer. D'ailleurs le même individu peut passer successivement d'un mode à l'autre.

Troisième mode de déplacement que nous désignerons par le terme, déplacement par flot continu, consiste en ceci : le lobopode ectoplasmique hyalin persiste tout le temps. Il n'y a pas d'éruption herniaire d'endoplasme ; celui-ci, de même que l'ectoplasme, coule d'une façon ininterrompue.

Dans les deux premiers modes de progression le courant centrifuge (dirigé d'arrière en avant) endoplasmique, au début, n'a lieu que dans la région axiale du corps, les deux zones marginales restent quelque temps stationnaires et ne sont entraînées que plus tard.

Les courants marginaux inverses (dont l'existence chez les amibes a été niée à tort) sont surtout nets lorsque le déplacement total de l'amibe est rendu impossible. Dans ces conditions on peut également observer les mouvements péristaltiques (qui rappellent un peu la métabolie d'une *Astasia*).

Dans l'endoplasme d'*Ent. histolytica* on observe des microsomes et des macrosomes. Ces derniers se présentent comme des sphérules assez réfringentes de 2 à 4 μ (parfois de 5 μ) de diamètre ; on en compte généralement 2-5 dans un individu. Si la température s'élève jusqu'à 40°-45° les micro- et macrosomes passent à l'état de sol et on ne les voit plus ; la viscosité de l'endoplasme est diminuée et c'est alors qu'on observe le déplacement le plus rapide. A un état d'hydratation plus avancé, dans cet endoplasme vitreux et homogène, apparaissent les vacuoles.

Ainsi la partie amorphe de l'endoplasme et les micro-macrosomes ne sont que deux états physiques différents d'une même substance ; le degré de dispersion de celle-ci varie et lorsqu'il devient très élevé les parcelles colloïdales se trouvent au-dessous du pouvoir résolvant du microscope, et alors le cytoplasme nous paraît homogène. D'ailleurs ces deux états sont parfaitement interchangeables, la partie amorphe peut se concréter en micro-macrosomes et inversement, les granules peuvent passer à l'état de sol.

J'ai été amené à considérer l'état immobile que présente l'amibe dysentérique à une température un peu basse comme une sorte

d'anabiose. Cet état anabiotique apparaît déjà lorsque la température ambiante descend à 10°-12°. Pendant l'état anabiotique la partie amorphe de l'endoplasme est très réduite et quelquefois semble même faire défaut complètement : elle s'est concrétée entièrement en micro- et macrosomes. Ainsi l'anabiose — comme c'est la règle générale — est accompagnée d'une déshydratation du cytoplasme. Cette anabiose est un phénomène réversible tant que les protéines ne sont pas dénaturées : si le cytoplasme prend un aspect finement granuleux (poussièreux), c'est là un changement nécrobiotique irréversible.

Un processus contraire à l'état anabiotique s'observe assez souvent, c'est la vacuolisation du cytoplasme. La vacuolisation même poussée très loin est souvent compatible avec la vie, les amibes fortement vacuolisées se déplacent énergiquement. C'est un processus réversible, les vacuoles peuvent régresser complètement.

Chez l'*Entamoeba histolytica* il convient de distinguer deux sortes de vacuoles : petites vacuoles qui se forment probablement aux dépens des grains colloïdaux (micro- et macrosomes) ; grosses vacuoles qui se forment à l'extrémité postérieure de l'amibe par une sorte de phagocytose : deux pseudopodes arqués apparaissent et en se fusionnant ils englobent du liquide ambiant qui passe sous forme d'une vacuole dans l'endoplasme. Ces grosses vacuoles s'observent lorsque les amibes surchauffées se trouvent dans un milieu hypertonique. On peut désigner ce processus — que nous signalons ici pour la première fois — par le terme HYDROPHAGOCYTOSE.

Notons encore le fait suivant : les amibes à l'état mobile possèdent une abondante réserve de glycogène. Ainsi le glycogène n'est point formé *de novo* dans les kystes, il est seulement condensé dans une vacuole.

Tiflis, Institut tropical de Géorgie.

Sur une coccidie de la mangouste,

Par L. BALOZET.

Les matières fécales de deux mangoustes (*Herpestes ichneumon*), provenant de la région de Zaghouan (Tunisie), contenaient des ookystes de coccidies de forme subsphérique, dont un grand nombre présentaient un début de segmentation en deux sporocystes. Les dimensions moyennes, mesurées sur 100 exemplaires, sont de 22 μ 2 sur 19,2. Le plus grand ookyste mesure 25 μ 5 $\times$ 20 ; le plus

petit, $19 \mu \times 16,5$. L'enveloppe de l'ookyste est à double contour, mais paraît assez facilement déformable; elle porte un micropyle peu visible, elle est très transparente et non colorée.

Le protoplasme forme une masse arrondie n'occupant que les deux tiers ou les trois quarts du volume intérieur de l'ookyste, granuleuse et renfermant un noyau très apparent. Sur certains ookystes, la masse protoplasmique renferme deux noyaux; sur d'autres, le protoplasme tend à se diviser en deux parties; sur d'autres enfin, les plus nombreux, on en compte 62 o/o, la division en deux sporocystes est complète; ceux-ci sont arrondis, légèrement ovoïdes, à enveloppe plus mince que celle de l'ookyste.

Mis en incubation sur du papier-filtre imprégné d'une solution de bichromate de potasse, les ookystes, après quatre jours, à la température d'environ 20° , montrent deux sporocystes qui contiennent chacun quatre sporozoïtes et un reliquat de segmentation bien visible. Les quatre sporozoïtes sont disposés parallèlement, à la manière de quatre bananes placées côte à côte.

Les matières fécales ainsi mises en incubation ont été administrées, à la sonde, le 31 mars, à un chiot de quelques jours. Le 9 avril, l'inoculation est répétée. Pour la première fois, le 13 avril, on trouve deux coccidies dans les selles du chiot. Leur nombre augmente progressivement jusqu'au 22. Elles furent extrêmement nombreuses pendant quatre jours, du 20 au 24, pendant lesquels l'animal avait de la dysenterie, mais très rapidement, en trois jours, les ookystes devinrent rares, et le sacrifice du chiot, le 30 avril, ne permit pas de trouver de lésions intestinales visibles.

Les caractères de cette coccidie et le fait qu'elle peut être transmise au chien permettent de l'identifier à *Isospora rivolta* (Grassi, 1879), qui paraît bien être une espèce assez ubiquiste, susceptible de parasiter plusieurs espèces de carnassiers, notamment la mangouste vivant à l'état sauvage.

Institut Pasteur de Tunis.

Les causes d'erreurs dans la pratique

de la mélanofloculation,

Par A. HENRY.

La mélanofloculation est une réaction fort simple. Néanmoins, il est bon de préciser quelques causes d'erreurs qui peuvent fausser les résultats obtenus. Nous envisagerons les divers points sur lesquels le sérologiste doit porter son attention.

I. CAUSES D'ERREURS DUES AUX RÉACTIFS MÉLANIQUES. — La mélanine d'œil (de bœuf, pigment choroïdien) nous a semblé préférable aux mélanines d'autre provenance. Nous l'avons déjà fait observer au dernier *Congrès International du Paludisme* (Alger, 1930). La mélanine de seiche (*Sepia*) donne des résultats bien inférieurs. La mélanine qui se forme dans les solutions alcalines de tyrosine n'a pas été utilisable. La mélanine de sarcome de chevaux que l'on peut employer nous a paru conserver moins longtemps le titre établi comme utilisable dans la réaction que les émulsions d'origine choroïdiennes.

L'émulsion mère de mélanine ne doit pas être trop claire. Elle devrait être alors peu diluée pour la réaction et la petite quantité de formol ajoutée pour la conservation aurait une influence sur les résultats. La durée de la centrifugation dans la préparation de la mélanine peut varier suivant le type de centrifuge, le diamètre et la longueur des tubes. Une centrifugation d'une minute à 4.000 tours convient souvent pour obtenir une préparation à diluer au dixième utilisable pour la réaction. C'est le taux de dilution qui nous a paru le plus favorable. On peut toujours arriver ensuite à établir ce taux, en centrifugeant une partie de la préparation obtenue. Si elle était trop ou pas assez foncée, diluer la provision avec du liquide surnageant le culot de centrifugation ou concentrer en ajoutant du culot que l'on émulsionne avec soin. Une préparation peut aussi être simplement corrigée par l'addition, suivant le cas, d'une mélanine un peu trop concentrée ou d'une mélanine un peu trop claire que l'on tient en réserve.

L'opacité de l'émulsion diluée, utilisée pour la réaction, devra correspondre aux chiffres de 0 g. 20 à 0 g. 25 d'une échelle opacimétrique pour dosage de l'albumine, ou mieux, présenter un chiffre de densité optique de 47 à 50 (1), mesurée au photomètre de VERNES-BRICQ-YVON (moyenne 48). On peut aussi comparer une mélanine avec une mélanine déjà bien titrée.

Outre ce titrage approximatif, il est recommandé de pratiquer, un mois après, un titrage plus précis en utilisant des sérums normaux, des sérums d'affections diverses, et des sérums paludéens (20 au moins de chaque catégorie, en particulier sérums de syphilitiques et de tuberculeux à pouvoir floculant élevé). On essayera donc des dilutions au 1/10^e, au 1/11^e, au 1/12^e, que l'on mettra en

(1) Les chiffres indiqués dans notre article des *Archives de l'Institut Prophylactique* du 4^e trimestre 1929 ne tenaient pas compte de la variabilité de l'épaisseur des verres des cuves. Les chiffres que nous indiquons sont obtenus en mesurant d'abord une cuve pleine de l'émulsion de mélanine, puis la même cuve bien lavée pleine d'eau : prendre la différence.

présence des sérums ; ou mieux on fera des expériences en utilisant des émulsions donnant au photomètre 48, 49, 50 d'opacité propre. Retenir comme titre valable le taux d'opacité de la dilution qui donne les résultats les plus nets et les plus spécifiques. Il ne faut pas conserver la mélanine toute diluée, comme nous l'avons vu faire par certains ; la dilution convenable doit être établie au moment du besoin. L'émulsion-mère sera agitée fréquemment si possible, au moins une fois par semaine et surtout avant utilisation. Pour toutes les émulsions à gros grains utilisées en biologie, cette remise en suspension est nécessaire.

II. En ce qui concerne les liquides de dilutions employés dans la réaction, nous avons récemment indiqué les règles à suivre à cet égard. Nous renvoyons à notre communication à la *Société de Biologie* (février 1933) et à notre article dans le journal *La Médecine* (décembre 1932).

III. Les sérums à examiner seront prélevés de préférence à jeun. Nous avons déjà insisté sur les inconvénients des sérums prélevés pendant la digestion. Les sérums présentant une très légère teinte hémoglobinique sont utilisables, mais des sérums trop teintés d'hémoglobine peuvent entraîner des erreurs. Utiliser des sérums 12 à 48 h. après le prélèvement. Après 3 jours, des sérums très clairs stériles ont pu être utilisés. Mais avec des sérums anciens on peut avoir des floculations non spécifiques. L'énonciation des résultats devra donc comporter quelques réserves.

IV. Nous n'insisterons guère sur le matériel à employer. La verrerie doit être l'objet de soins très minutieux comme pour toutes les méthodes de floculation. Nous employons des tubes de 13 cm. $\times$ 75 cm., que nous bouchons au liège bien propre, ou mieux avec des bouchons de caoutchouc de bonne qualité (ceux de la méthode VERNES). La dimension des tubes employés n'est pas indifférente. Des tubes trop étroits rendent difficile la manœuvre du double renversement dont nous allons parler. Des tubes trop longs peuvent donner lieu à de trop violentes secousses.

V. Dans la lecture des résultats, des erreurs pourraient donc être commises. Nous rappellerons encore les détails de la manœuvre permettant d'éliminer la simple sédimentation de la mélanine, provoquée par certains sérums. On commence par saisir chaque tube par l'extrémité supérieure entre le pouce et l'index et, tout en le tenant assez droit, on le fait rouler deux fois entre les doigts pour décoller le sédiment. Puis faire deux renversements du tube très doucement, très lentement, sans secousse ; ainsi on supprime la sédimentation tout en respectant la vraie floculation. Pour observer les floculats on peut regarder le tube en le plaçant incliné un peu au-dessus des yeux, devant une lampe de 50 bougies à verre

non dépoli. On peut aussi regarder d'en haut le tube incliné devant la lampe. Il y a une habitude à acquérir. Quelquefois, des floculations douteuses, non valables, disparaissent d'elles-mêmes après quelques instants.

Quoi qu'il en soit, il ne faut retenir que les réactions tout à fait nettes. C'est pourquoi nous pensons qu'il vaut mieux ne pas employer la loupe ou le miroir concave. Si l'on emploie l'agglutinoscope, qui est, il est vrai, muni d'une loupe, mais qui constitue en même temps un fond noir, on devra écarter les aspects en grains fins ou en voile granuleux pour ne retenir comme valable que l'aspect en flocons de neige. L'agglutinoscope n'est en général pas indispensable bien qu'utile. On devra toujours se rappeler que la recherche d'une sensibilité excessive est préjudiciable à la valeur spécifique des résultats. WASSERMANN avait déjà insisté sur ce point au sujet de sa réaction. En sérologie des réactions légères ne seront jamais retenues qu'à titre d'indication, avec une prudente réserve et il faudra les répéter. La répétition est d'ailleurs indiquée dans le cas de suspicion légitime de paludisme. L'observation minutieuse des tubes témoins est indispensable, la floculation dans un tube témoin annule la réaction dans la série correspondante (eau distillée ou salée). Avec certains sérums très teintés d'hémoglobine, non paludéens, on peut observer dans les tubes témoins une opacification parfois notable sans précipité et en même temps une légère précipitation dans les tubes de réaction. Il y a là une cause d'erreur. Il vaut mieux, avec de pareils sérums, ne pas chercher à conclure. La méthode macroscopique est alors pour ainsi dire impuissante et il est préférable d'émettre un doute. Ces sérums sont mieux étudiés par le photomètre, le chiffre d'opacité dans le tube témoin venant en déduction du chiffre du tube de réaction.

VI. Aussi nous désirons spécialement insister ici sur l'emploi de la *méthode photométrique*. Etant donné la diffusion actuelle du photomètre de VERNES, BRICQ et YVON, applicable à tant d'examen divers, nous croyons devoir conseiller spécialement le procédé photométrique, sur lequel nous aurons très prochainement l'occasion de fournir de nouveaux détails. Il est un point sur lequel nous pensons devoir insister : avant chaque séance, bien vérifier le degré d'opacité de l'émulsion utilisée. Cette opacité devra être d'au moins 47, d'au plus 50, devant d'ailleurs correspondre à celle que le titrage dont nous avons parlé aura désigné entre ces divers chiffres comme le plus spécifique. Une émulsion trop concentrée dépassant 50, répétons-le, donnera des erreurs.

Nous avons vu qu'il fallait savoir parfois exprimer un doute devant certains résultats. Avec le photomètre, après réglage du procédé, on déterminera nettement la zone de négativité, la zone

de doute et le point de passage à la zone d'activité sérologique. Pour les laboratoires possédant cet appareil, la méthode photométrique est la méthode la plus simple et la plus sûre. La sécurité du procédé est presque absolue.

En outre, l'appréciation de l'intensité de la réaction positive est beaucoup plus précise et permet mieux de mesurer l'influence du traitement.

VII. Quel que soit le mode de lecture employé, quelques précautions sont indispensables dans l'interprétation des résultats qui auront été inscrits.

Nous avons vu déclarer non spécifiques des floculations nettes constatées chez des sujets ayant eu antérieurement du paludisme, parce que ces sujets ne présentaient pas de signes cliniques actuels. On ne doit pas oublier que le paludisme latent même actif peut être bien ou mal supporté. La prémunition elle-même suppose par définition une infection latente. Rien n'est en faveur de longue persistance possible, quoique rare, de la réaction après disparition de l'infection ainsi que l'a hypothétiquement supposé récemment LE BOURDELLÈS (*Société Médicale des Hôpitaux*, 4 juin 1933). Des constatations qui seront prochainement publiées (1) montrent que le traitement bien conduit fait souvent disparaître la réaction. Si elle est ensuite seulement légère, elle finit par disparaître ; avec des réactions restant fortes (70, 80, 85) au photomètre on a régulièrement des récidives. Bien édifiants sont également les cas cités par le Professeur NOBÉCOURT de transmission de paludisme de type quarte par transfusion du sang à deux enfants d'un donneur qui n'avait jamais eu de symptômes de paludisme, mais ce sujet ayant séjourné dans des régions malariques (Dakar, Panama, Honolulu) avait absorbé de la quinine à titre prophylactique. La quinine n'avait fait qu'inhiber les manifestations fébriles sans empêcher l'infection. Bien intéressants aussi sont les faits rapportés par le Professeur REYNAUD d'Alger.

Dans un cas : état pulmonaire fébrile avec splénomégalie — mélanofloculation très positive — recherche infructueuse de l'hématozoaire pendant deux mois et demi par frottis hebdomadaire ; épreuve de « chasse » adrénalique, deux ponctions de rate, une trépano-ponction du tibia. Après deux mois et demi, constatation répétée d'hématozoaires dans le sang périphérique. Dans un autre cas de malariefloculation très positive sans hématozoaire constaté, l'examen après décès de la rate hypertrophiée fit constater en abondance du pigment mélanique. Le splanchnotropisme des hématies parasitées, que nous avons invoqué dans les cas de paludisme ancien, est cer-

(1) Docteur CATTOIR (Constantine).

tainement plus qu'une hypothèse. Les faits que nous avons cités en démontrent la valeur positive.

Nous avons tenu à insister sur cette question afin que l'on ne rejette pas sans plus de façon une réaction nette qui ne paraît pas trouver tout de suite son explication. Il suffit en particulier d'avoir passé dans une zone malarique pour avoir pu sans s'en douter être impaludé. La ligne de conduite la plus sûre sera de répéter la réaction. Pour n'importe quel test sérologique on peut rencontrer des causes accidentelles, passagères, qui voilent ou simulent une réaction. Une instabilité passagère de certains sérums est possible. Il est donc nécessaire d'établir une courbe sérologique comme une courbe thermique. Si, malgré tout, la réaction persiste, nette, indubitable, il faut avoir recours à l'épreuve thérapeutique et l'on aura, comme nous, l'occasion de voir disparaître complètement une réaction dont on ne pouvait pas s'expliquer la présence.

Ce qui précède peut s'exprimer ainsi : maintenir une relation constante entre la sérologie et la clinique, clinique à vues larges sur tous les phénomènes biologiques que l'on trouve à des degrés divers dans les états normaux et dans les états pathologiques.

Travail du Laboratoire Départemental de Constantine.

Prémunition des zébus malgaches vis-à-vis des piroplasmoses et splénectomie chez un veau zébu,

Par M. BUCK.

Le zébu malgache a la réputation d'être résistant à la piroplasmose et à l'anaplasmose bovines alors que les animaux de race normande, limousine, « schwitz », nés ou importés à la Colonie (ces derniers étant, jusqu'à l'avant-dernier envoi, prémunis en France) et les métis paient un assez lourd tribut à ces maladies, si on néglige pour eux l'emploi régulier du bain « détiqueur ».

Le zébu, dans sa première année, par suite des tiques qui lui inoculeraient *Piroplasma bigeminum* et *Anaplasma marginale*, ferait pour chacun de ses hémocytozoaires un accès aigu de première invasion qui passerait, cliniquement, inaperçu et duquel résulterait l'état de prémunition et même pour *Anaplasma marginale*, qui peut se transmettre par la voie placentaire, le jeune animal pourrait être infecté chronique et prémuni avant la piqure des tiques. L'hérédité dans cette résistance aux piroplasmoses joue aussi certainement un rôle. Cependant cet état de prémunition des

zébus peut être rompu en ce qui concerne l'anaplasmose et nous avons observé des accès de rechute graves, parfois mortels par *Anaplasma marginale*; par contre, on n'a jamais signalé et nous n'avons pas encore constaté dans la région de Tananarive des zébus présentant des symptômes cliniques de piroplasmoses à *Piroplasma bigeminum* (fièvre, ictère, hémoglobinurie, symptômes généraux graves). Sans doute, le zébu est-il mieux protégé contre ce dernier parasite qui, chez les animaux de race française même prémunis (peut-être le *Piroplasma* employé pour la prémunition et celui qui provoque la maladie ultérieurement, sont-ils de variété différente quoique morphologiquement semblables) détermine des accès de piroplasmose très souvent à issue fatale si on n'intervient pas à temps par le trypanbleu ou le pirobleu.

La rate étant considérée comme l'organe principal de la prémunition, l'opération de la splénectomie, en supprimant la rate, supprime la prémunition; l'on doit assister alors chez les animaux ainsi opérés à des accès aigus de piroplasmose dont ils sont atteints chroniquement.

Nous devons pouvoir chez le zébu malgache :

1° vérifier si les jeunes étaient bien infectés par *Piroplasma bigeminum* et *Anaplasma marginale*;

2° comparer l'accès de *Piroplasma bigeminum* à celui d'*Anaplasma marginale*;

3° constater s'il n'existe pas d'autre hémocytozoaire que *Anaplasma marginale* et *Piroplasma bigeminum*.

Le 22 novembre 1932, nous avons pratiqué la splénectomie sur un veau zébu de 6 à 7 mois, provenant de la ferme de Kianjasoa; l'animal, mis à la diète quelques jours auparavant, présentait au moment de l'opération une température un peu au-dessous de la normale; sitôt son réveil il cherchait à manger et dans les jours suivants il ne parut nullement affecté quoique la température atteignit et dépassât 39°5 le soir. Les examens des frottis de sang, en vue de la recherche des parasites, sont négatifs jusqu'au 4 décembre; le 5 décembre, à 8 h. du matin, on fait une injection sous-cutanée de 2 cm³ d'une solution d'adrénaline au 1/1.000^e; la température qui était à 8 h. de 38°4 et qui, la veille et l'avant-veille, avait varié aux environs de 38°, s'élève à 14 h. à 39°3, à 17 h. à 39°8; l'examen de sang prélevé à 17 h. montre avec de l'anisocytose des anaplasmes marginaux 80/1.000^e et des *Theileria mutans* 10/1.000^e; les 6, 7, 8 décembre, le nombre des hématies parasitées augmente progressivement, atteint son maximum le 8 au soir (500/1.000^e d'anaplasmes marginaux, 120/1.000^e de *Theileria mutans*) avec le maximum d'élévation thermique 40°5, les muqueuses sont pâles, l'urine est foncée, présente de l'albumine mais pas d'hémoglobine, l'appétit est moindre, la respiration et le pouls sont accélérés. Puis les anaplasmes diminuent progressivement pour disparaître le 17 décembre, alors que *Theileria mutans* persistera longtemps. Cependant les frottis de suc

ganglionnaire n'ont pas permis de déceler les corps en grenade de *Theileria mutans*.

A partir du 9 décembre, la courbe de la température ne dépassa pas 40° et ce n'est que le 15 décembre qu'on voit apparaître de rares *Piroplasma bigeminum* dans le sang 1/3.000^e, leur nombre ne dépassa pas 10/1.000 21 et 22 décembre. L'analyse d'urine du 22 décembre ne décèle ni hémoglobine, ni pigments biliaires, ni sels biliaires.

Cette expérience a donc permis de montrer que le veau zébu était bien infecté par *Anaplasma marginale* et *Piroplasma bigeminum*. Tandis que l'accès d'anaplasmose a été net cliniquement, le nombre des hématies parasitées élevé, l'accès de piroplasmose, par contre, a été peu marqué, les hématies parasitées rares, bien que, étant apparu en second, il soit survenu sur un animal en état de moindre résistance par suite de l'accès d'anaplasmose.

Dates	<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Theileria mutans</i>	<i>Piroplasma bigeminum</i>	Lésions du sang		
	pour 1.000 hématies			Anisocytose	Poikilocytose	Basophilie
5-12-32. . .	80	10		+++		
6-12-32. . .	250	20		+++		
7-12-32. . .	350	50		+++		
8-12-32. . .	500	120		++++		
10-12-32 (9 h.)	300	200		++++	+++	++
10-12-32 (16 h.)	200	300		++++	+++	+++
13-12-32. . .	40	50		++++	+++	++++
14-12-32. . .	15	20		++++	+++	++
15-12-32. . .	15	20	1 p. 3.000 hématies	++++	+++	+
16-12-32. . .	5	40	0	+++		
17-12-32. . .	0	20	1 p. 3.000 hématies			
18-12-32. . .	0	50	0			
19-12-32. . .	0	50	0			
21-12-32. . .	0	60	10			
22-12-32. . .	0	100	10			
30-12-32. . .	0	120	0			
1- 1-33. . .	0	150	0			
4- 1-33. . .	0	120	1 p. 2.000 hématies			
Ganglion	9-12 20-12	Absence de corps en grenade				

Enfin, nous avons pu mettre en évidence *Theileria mutans* piroplasmide non pathogène qui, jusqu'alors, n'avait pas été signalé à Madagascar.

A plusieurs reprises, nous avons cru voir, en examinant des frottis de sang d'autres bovins, cet hémocytozoaire, sous forme d'anneaux, d'ellipse, de bâtonnets, mais il était en nombre si restreint

que nous ne nous permettions pas de conclure ; les vétérinaires RAKOTO et BETROKA avait fait la même constatation que nous.

Nous avons adressé, pour assurer notre diagnostic, les frottis du veau zébu splénectomisé, à l'Institut Pasteur d'Alger ; le tableau ci-dessous indique le résultat de ces examens pratiqués par M. LESTOQUARD que nous remercions bien vivement.

Etude expérimentale de *Anaplasma centrale* THEILER, du Bœuf (1),

Par EDM. SERGENT, A. DONATIEN, L. PARROT et F. LESTOQUARD.

La découverte par A. THEILER, en 1911, dans le sang d'une génisse de Prétoria, d'un anaplasme dépourvu de virulence, caractérisé par sa situation centrale dans le globule rouge, a fait naître l'espoir d'utiliser ce parasite bénin pour prémunir les bovins contre le dangereux *Anaplasma marginale*.

A l'instigation de sir ARNOLD THEILER, nous avons entrepris l'étude expérimentale de deux souches d'*A. centrale* qu'a bien voulu nous envoyer du Kenya M. J. WALKER, Directeur du Laboratoire de Recherches vétérinaires de Kabete (Nairobi), et nous avons comparé *A. centrale* avec *A. marginale*. Ces expériences ont été poursuivies à Alger, sur environ 80 veaux d'Aubrac.

Nous avons d'abord établi l'identité des différentes souches d'*A. marginale* de continents différents.

I. — UNICITÉ DE L'ESPÈCE MONDIALE « ANAPLASMA MARGINALE » THEILER, D'APRÈS L'ÉPREUVE DE LA PRÉMUNITION CROISÉE

Nous avons déjà montré, en 1927, l'identité d'une souche d'*A. marginale* d'origine algérienne, et d'une souche d'*A. marginale* d'origine argentine (2).

De nouvelles expériences de comparaison ont été faites entre *A. marginale* algérien et une souche d'*A. marginale* d'origine brésilienne qu'a bien voulu nous envoyer M. A. OMLIN, de l'Institut sérothérapique et vaccinal de Berne.

(1) Un mémoire complet paraîtra dans les *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*, t. XI, 1933.

(2) SERGENT (EDM.), DONATIEN (A.), PARROT (L.), LESTOQUARD (F.), PLANTUREUX (EDM.). Les piroplasmoses bovines. Deuxième mémoire. Méthodes de prémunition. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, t. V, n° 3, sept. 1927, p. 316.

1. Sept veaux porteurs chroniques d'*A. marginale* algérien, inoculés avec *A. marginale* brésilien, présentent un accès très faible, purement parasitaire, tout à fait comparable aux accès présentés par quatre veaux déjà prémunis contre *A. marginale* brésilien et réinoculés avec *A. marginale* brésilien. Les six veaux neufs, témoins, inoculés pour la première fois avec *A. marginale* brésilien, ont tous accusé des accès forts ou très forts (1 mortel).

2. Inversement, quatre veaux porteurs chroniques d'*A. marginale* brésilien, inoculés avec *A. marginale* algérien, ne font pas d'accès, ou font un accès bénin purement parasitaire, semblable aux accès bénins présentés par huit veaux déjà prémunis contre *A. marginale* algérien et réinoculés avec *A. marginale* algérien. Six veaux neufs, inoculés pour la première fois avec *A. marginale* algérien, pour servir de témoins, réagissent par un accès fort ou très fort (mortel dans un cas).

3. Enfin, sur trois veaux prémunis à la fois contre la souche algérienne et la souche brésilienne, l'un, réinoculé avec du virus algérien, n'a qu'un accès parasitaire très faible, les deux autres, réinoculés avec du virus brésilien, n'ont, le premier qu'un accès parasitaire très faible, le second pas d'accès ni thermique ni parasitaire.

Ainsi, *A. marginale* de provenance brésilienne, comme *A. marginale* de provenance argentine, ne se différencie pas de *A. marginale* d'origine algérienne. *Anaplasma marginale* semble donc être une espèce mondiale.

II. — COMPARAISON D'« ANAPLASMA CENTRALE » AVEC « ANAPLASMA MARGINALE » D'APRÈS L'ÉPREUVE DE LA PRÉMUNITION CROISÉE

1. 11 veaux porteurs chroniques d'*A. centrale*, inoculés avec *A. marginale* (six veaux avec la souche algérienne, et cinq veaux avec la souche brésilienne), présentent un accès thermique et parasitaire, tout comme les 12 veaux neufs témoins, sauf dans un cas, où l'accès du porteur de *A. centrale* a été moins fort que celui du veau neuf témoin. D'autre part, pas de morts chez les porteurs de *A. centrale*, deux morts chez les veaux neufs témoins.

Au contraire, les 26 veaux déjà porteurs de virus d'*A. marginale*, d'origine algérienne ou brésilienne, témoins prémunis, ne font pas d'accès ou font un léger accès parasitaire quand ils sont réinoculés avec le même virus d'*A. marginale*.

2. Inversement, six veaux porteurs chroniques de *A. marginale* (cinq de *A. marginale* algérien, un de *A. marginale* brésilien), inoculés avec *A. centrale*, accusent un accès tout à fait semblable à celui de quatre veaux neufs inoculés, au même moment et avec

les mêmes doses, d'*A. centrale*, pour servir de témoins. Au contraire, trois veaux déjà porteurs de virus de *A. centrale*, témoins prémunis, ne font aucun accès quand ils sont réinoculés avec le même virus d'*A. centrale*.

En conclusion, d'après l'épreuve de prémunition croisée, *A. centrale* constitue une espèce différente de *A. marginale*.

III. — CARACTÈRES D' « ANAPLASMA CENTRALE »

On peut assigner à l'espèce *Anaplasma centrale* Theiler les caractères morphologiques et biologiques suivants :

— Les $9/10^e$ des *A. centrale* sont situés dans le centre des globules rouges ; $1/10^e$ seulement touche le bord du globule rouge ; tandis que, dans l'espèce *A. marginale*, on trouve $2/10^e$ d'éléments internes et $8/10^e$ d'éléments périphériques.

A. centrale mesure de $0 \mu 40$ à $0 \mu 95$, avec une moyenne de $0 \mu 65$; nous avons trouvé pour *A. marginale* algérien, un minimum de $0 \mu 30$ et un maximum de $0 \mu 80$, avec une moyenne de $0 \mu 55$.

— Sur 1.000 *A. centrale* :

955 sont seuls dans un globule rouge,

42 sont par paire dans le même globule rouge,

3 parasitent le même globule rouge.

— L'infection pure à *A. centrale*, étudiée chez 24 bovins, s'est traduite 15 fois par un accès parasitaire seulement, huit fois par un accès parasitaire et un accès thermique, et une fois par une infection latente d'emblée, sans accès aigu parasitaire ou thermique. L'accès aigu, quand il existe, est toujours faible, la maladie toujours bénigne ; la mortalité a été nulle. L'infection chronique paraît très durable. Le virus peut se conserver virulent au moins pendant 21 jours dans le sang défibriné.

— En résumé, les caractères qui différencient *A. centrale* de *A. marginale* sont : sa situation centrale dans le globule rouge, la bénignité de l'infection qu'il cause, les résultats de la prémunition croisée.

Institut Pasteur d'Algérie.

A propos de *Bartonella bacilliformis* et *Eperythrozoon noguchii*.
Unicité ou dualité de la verruga et de la fièvre de Oroya,

Par H. GALLIARD.

La question de l'unicité ou de la dualité de la *verruca peruviana* et de la fièvre de Oroya a fait l'objet de bien des discussions et il semblait que le sujet fut provisoirement tranché dans le sens uniciste. Dans un travail paru dans le dernier numéro de ce *Bulletin*, A. LWOFF (1) revient à la théorie dualiste de STRONG et admet maintenant qu'il existe deux agents pathogènes : *Bartonella bacilliformis* STRONG et collaborateurs 1915, et *Eperythrozoon noguchii* LWOFF et VAUCEL 1931.

LWOFF et VAUCEL en 1931 (2) sur des microphotographies publiées par NOGUCHI dans un de ses travaux (3) concernant l'étiologie de cette affection avaient constaté la présence de corps coccoïdes intra et extra-globulaires dans le sang d'un malade atteint de fièvre de Oroya et chez un singe infecté expérimentalement. Ces corpuscules ont été déjà vus et figurés par plusieurs auteurs qui n'y avaient pas attaché d'importance particulière. Pour LWOFF et VAUCEL, ce sont au contraire des organismes présentant exactement l'aspect d'éperythrozoaires d'où le nom d'*Eperythrozoon noguchii* qu'ils lui ont donné. Ils considèrent également que c'est à l'association de ces deux éléments qu'est due la gravité de la fièvre de Oroya.

En ce qui concerne le sang du singe de NOGUCHI (pl. III, fig. 4) il y existe incontestablement des éperythrozoaires. Dans le cas de l'homme c'est infiniment plus douteux, et la figure 16 de la planche III est loin d'être démonstrative à cet égard. L'examen de préparations, dues à l'obligeance du docteur RIBEYRO (collection du prof. BRUMPT), d'un cas humain de fièvre de Oroya nous a permis de constater, comme bien d'autres, l'existence de ces formes coccoïdes, mais elles n'ont qu'une ressemblance assez lointaine avec *Eperythrozoon*.

L'agent pathogène de la fièvre de Oroya se présente-t-il donc sous deux aspects distincts, coccoïde et bacilliforme, ou sont-ce deux germes différents comme le pensent LWOFF et VAUCEL ? L'hypothèse de ces auteurs est défendable, mais impossible à vérifier d'une façon certaine tant que l'on n'aura pas réussi à séparer les deux germes. Rien ne prouve non plus que les éperythrozoaires du singe de NOGUCHI aient été inoculés avec le virus et ne soient pas

(1) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. XXVI, 1933.

(2) *Ann. Inst. Pasteur*, t. XLVI, 1931, p. 270.

(3) *Jl. experim. Med.*, t. XLV, 1925, pp. 175, 189.

au contraire des éléments préexistants mis en évidence par l'infection à *Bartonella* au même titre qu'*Eperythrozoon coccoides* par la splénectomie chez la souris.

De plus on ne peut supposer que la prédominance de ces formes coccoides conditionne la gravité de la maladie, puisque les formes persistent en aussi grand nombre, sinon plus, dans le sang du singe n° 41 de NOGUCHI, le 52^e jour, c'est-à-dire à la période d'amélioration très nette, où les *Bartonella* commencent à dégénérer qu'au 30^e jour de la maladie.

Dans son dernier travail, A. LWOFF (1) admet maintenant que *B. bacilliformis* serait exclusivement l'agent de la *verruca*, et que la fièvre de Oroya serait due à l'éperythrozoaire seul. Il base ses affirmations sur les faits suivants : Les cultures obtenues par NOGUCHI ne contiennent que *Bartonella* puisque les éperythrozoaires ne sont pas cultivables, ceci expliquerait que « jamais l'on n'a réussi à conférer au singe la fièvre de Oroya typique avec des cultures de *Bartonella bacilliformis* et que la reproduction expérimentale de la fièvre de Oroya chez le singe n'a été réussie jusqu'ici que par inoculation de sang de malade atteint de fièvre de Oroya ».

Ces affirmations semblent en contradiction avec les résultats obtenus par les différents expérimentateurs. STRONG et ses collaborateurs n'ont jamais réussi à inoculer la fièvre de Oroya aux singes avec du sang humain, NOGUCHI non plus (2), ni MAYER et KIKUTH (1927). TAMAYO n'a réussi à transmettre ainsi que la *verruca*.

C'est au contraire avec des cultures provenant d'un cas mortel de fièvre de Oroya, que NOGUCHI obtint chez le singe une infection se traduisant par une fièvre prolongée, irrégulière, rémittente, avec apparition de *Bartonella* dans les globules rouges. Ce syndrome ne rappelle pas évidemment celui de la fièvre de Oroya de l'homme. Mais avec ces mêmes cultures, NOGUCHI produisit expérimentalement la *verruca*. Dans un cas (*M. rhesus* 25) il injecta une culture dans les veines et inocula le broyat d'une verrue (du singe 18 inoculé

(1) « Our experiments show that we were able with little difficulty to infect animals with the virus of *verruca peruviana*, but our attempts to inoculate animals with *Bartonella bacilliformis* were unsuccessful ... » (p. 34). Intravenous inoculations of the blood containing the parasites (*Bartonella bacilliformis*) into monkeys and rabbits, and the intratesticular inoculation of rabbits produced neither local lesions, verrugas upon the skin nor lesions elsewhere » (p. 81). R. P. STRONG and coll. : *Rep. of first expedition to South America*, 1913. Cambridge, 1915.

(2) « Inoculations into *rhesus* monkeys of the citrated human blood from which our cultures were derived induced no apparent symptoms ». (*Jour. of exper. med.*, t. XIV, p. 851).

lui-même avec une culture), et détermina ainsi un syndrome mortel de fièvre de Oroya (1.624.000 G. R., 25 o/o d'hémoglobine, infection intense à *Bartonella*).

Comme il s'agit d'une culture au premier passage, on pourrait invoquer une conservation du virus. Il est cependant curieux de constater que le sang humain virulent est absolument sans action alors qu'un simple séjour de 8 jours dans un tube de culture le rendrait pathogène, si peu que ce soit pour le singe. Or, en culture, seules les *Bartonella* se sont multipliées, et dans les verrues, d'après la théorie uniciste de LWOFF, seules les *Bartonella* peuvent exister. On ne voit donc pas comment interviendrait l'épérythrozoaire.

Envisageons la question de la verruga. Elle est facilement inoculable de l'homme à l'homme (STRONG) et de l'homme au singe (JADASSOHN et SIEFFERT, ROCHA LIMA, RIBEYRO, ARCE et MACKEHENIE, STRONG). Avec des cultures obtenues à partir d'une verrue de l'homme ou du singe, on peut non seulement déterminer aisément la verruga chez le singe mais également un syndrome comparable à celui de la fièvre de Oroya. Et nous ferons remarquer que le singe de NOGUCHI (*M. rhesus* 41), dont les microphotographies du sang ont servi de point de départ à LWOFF et VAUCEL pour établir l'existence d'épérythrozoaires, était inoculé avec une culture de 18 jours provenant du sang de *M. rhesus* 33, inoculé lui-même avec le broyat d'une verrue humaine (strain 15). Par conséquent le virus venant directement de la verrue donne au singe une infection fébrile légère, alors que le sang d'un malade de fièvre de Oroya mortelle ne détermine rien. On peut répondre à cela que, avec la verrue, on a pu inoculer du sang et que le malade était atteint d'infection mixte. Mais si nous examinons les protocoles de NOGUCHI, nous voyons que les *M. rhesus* 33 et 34 inoculés avec la verrue humaine ont eu de la fièvre mais pas d'anémie et l'on n'a pas pu trouver de *Bartonella* dans les globules rouges par examen direct. Par contre, les cultures du sang du *M. rhesus* 33 inoculées à *M. 41*, par simple scarification, ont déterminé une anémie et surtout un abaissement du taux de l'hémoglobine très importants, ainsi que l'apparition de nombreuses *Bartonella* et d'éléments coccoides. Par contre, le sang de ce même *M. 33* inoculé directement à un témoin n'a déterminé qu'une infection légère, apyrétique. Ici encore il a suffi du séjour du virus dans un tube de culture pour déterminer chez l'animal une infection grave.

Ainsi avec des cultures à partir d'un cas humain, mortel, de fièvre de Oroya, on produit chez le singe la verruga et un syndrome comparable à celui de la fièvre de Oroya. Avec des cultures provenant d'un cas de verruga ou avec le produit de broyage d'une ver-

rue, on reproduit la fièvre de Oroya (cas de CARRION) et la verruga.

Ces faits cadrent évidemment assez mal avec l'hypothèse de deux agents pathogènes dont l'un, *Eperythrozoon*, déterminerait seul la forme grave de la maladie. Si cette théorie était exacte, seules les *Bartonella* pourraient se multiplier en culture, alors que l'épérythrozoaire pourrait survivre tout au plus, et il se trouve justement que c'est la culture seulement qui détermine chez l'animal des symptômes se rapprochant de la fièvre de Oroya de l'homme. Et de plus, si *Bartonella*, agent exclusif de la verruga, n'était pas pathogène, comment expliquer qu'avec les verrues, par passages successifs chez le singe, on arrive à exalter la virulence et à obtenir des infections graves, alors qu'à partir du sang qui contiendrait soi-disant le germe mortel, l'épérythrozoaire, on n'obtiendrait rien.

On serait plutôt amené à admettre que le virus est le même. Il se trouve dans les cultures récentes et surtout dans les verrues sous forme plus facilement inoculable et plus virulente. Est-ce dû à la pullulation des germes comme le pensait NOGUCHI? Cette explication, est actuellement la seule qu'on puisse donner.

D'après LWOFF également, l'hypothèse de deux agents différents expliquerait les insuccès de beaucoup d'auteurs qui n'ont pas réussi à obtenir des *Bartonella* par hémoculture; il s'agirait de fièvre de Oroya pure, sans *Bartonella*. Cet argument est insoutenable. STRONG a fait trois essais infructueux d'hémoculture chez des malades dont les hématies contenaient cependant de nombreuses *Bartonella*. On ne peut donc invoquer qu'une question de technique.

Nous n'insisterons pas sur les arguments cliniques. D'autres l'ont fait avec infiniment plus de compétence que nous ne pourrions le faire. Actuellement la grande majorité des médecins péruviens sont unicistes, et nous renvoyons à l'article publié dans un des numéros de ce *Bulletin* par notre collègue, le docteur RIBEYRO (1), qui a résumé la question de façon magistrale. On trouve tous les intermédiaires entre la verruga apyrétique sans *Bartonella* apparentes dans le sang et la fièvre de Oroya, anémie mortelle. Il est souvent impossible de dire où commence l'une et où finit l'autre. Ce ne sont pas deux maladies coexistant chez le même individu, car, quelle que soit la gravité du syndrome, le malade ne meurt pas s'il fait une éruption; aucun cas mortel ne s'est accompagné de l'apparition de verrugas, et jamais un individu ne guérit sans présenter une éruption. Il n'y a là qu'une question de virulence.

A cela les dualistes répondent que la distribution géographique des deux maladies est identique, qu'elles sont inoculées par le

(1) *Bull. Soc. de Path. exot.*, t. XX, 1927, p. 790.

même hôte vecteur et qu'elles coexistent souvent chez le même individu, qu'elles immunisent l'une contre l'autre. On ne voit pas très bien où finit l'unicité et où commence la dualité. Il faut constater de plus que jamais l'on n'a observé de cas de fièvre de Oroya mortelle pure, c'est-à-dire avec épérythrozoaire et sans *Bartonella*, le cas eut été trop curieux pour ne pas être immédiatement signalé.

Ainsi l'existence d'une maladie due à l'association de deux éléments différents, *Bartonella* et *Eperythrozoon*, est très douteuse en ce qui concerne l'homme tout au moins. Les épérythrozoaires existaient probablement chez le singe n° 41 de NOGUCHI, mais n'étaient certes pas d'origine humaine puisque ces corps ne sont pas du moins, jusqu'à présent, cultivables.

Quand à l'hypothèse de deux affections différentes dues à deux agents pathogènes différents, elle est contraire à toutes les observations cliniques, microbiologiques et expérimentales.

*Laboratoire de parasitologie de la
Faculté de Médecine de Paris.*

Addendum à une communication

sur les accidents dus au tryponarsyl,

Par BARLOWATZ.

Le hasard nous a permis de faire l'observation suivante qui est bien suggestive.

Une solution est préparée avec du tryponarsyl de la série 1161, datant de plusieurs années. Une partie de la solution est administrée à des rats et souris sauvages en injection sous-cutanée, aux doses suivantes :

4 animaux	1 g./kg.
4 »	2 g./kg.
4 »	3 g./kg.
4 »	4 g./kg.

Une heure après, la même solution sert à injecter des trypanosomés ambulants, dans les veines, à la dose moyenne de 0,04 g./kg. correspondant donc à 2 g. pour un adulte de 50 kg.

Tous les malades, au nombre de 30, montrent bientôt des réactions violentes, vomissements, pouls rapide, faiblesse, sensation de

mourir, abattement, réactions qui durent une ou quelques heures. Aucun décès. Le lendemain certains malades se plaignent de maux de tête, mais les autres sont rétablis.

Par contre les rongeurs ne manifestent ni réaction immédiate, ni mortalité; ils restent tous vivants.

Ceci montre bien, *que l'essai du trypanarsyl sur de petits rongeurs ne permet pas de conclure à son innocuité pour l'homme.*

D'autre part, l'on sait que beaucoup de préparations arsenicales, comme le salvarsan et ses dérivés, sont essayés par injection à de petits rongeurs. La plupart des grands pays ont adopté une méthode qui consiste à injecter de 5 à 20 rats ou souris, dont la mortalité ne doit pas dépasser une proportion déterminée du nombre total d'animaux utilisés. Si moins d'animaux meurent, la toxicité du produit est considérée comme suffisamment faible, et la vente est autorisée.

Les faits relatés ci-dessus suggèrent que la toxicité d'un arsenical pour le petit rongeur et pour l'homme n'est pas parallèle, *qu'un médicament peut être inoffensif pour l'animal et nocif pour l'homme*, et que la question mériterait peut-être une étude complémentaire.

Sur les facteurs déterminant le développement des œufs d'Ankylostomes,

Par A. ALEXEIEFF.

On sait que les œufs d'Ankylostomes ne se développent jamais dans l'intestin; on admet que deux conditions s'opposent à ce développement: la température trop élevée (l'optimum se trouve entre 25 et 30° C.) et l'absence d'oxygène. Ce dernier point a été établi par les observations de LEICHSTENSTERN et d'autres auteurs.

Nous avons repris cette question de la nécessité de l'oxygène pour la segmentation de l'œuf et la formation de la larve rhabditoïde.

Nos observations se rapportent à *Necator americanus* — l'espèce qui à Adjaristan prédomine (dans le rapport de 9 à 1, *Ankylostoma duodenale* se rencontrant le plus souvent en compagnie de *N. americanus*).

OBSERVATION I. — On place les œufs de *Necator americanus* recueillis par la méthode de FÜLLEBORN dans une boîte de PETRI renfermant de l'eau de robinet: on met à l'étuve à 30°. 28 h. après on constate que la plupart d'œufs renferment des larves, des formes en têtard, ou bien des larves mûres.

OBSERVATION II. — On refait la même expérience avec cette différence que l'examen a lieu après un séjour de 32 h. à 30°. A peu près dans tous les œufs on voit des larves mûres ; de plus il y a trois larves écloses qui se déplacent.

OBSERVATION III. — On met trois femelles (après un séjour de 14 h. dans les eaux de lavage) dans de l'eau de fontaine. Le tout est placé à l'étuve à 28°. 24 h. après on examine ces femelles : déjà avec un faible grossissement, on voit des larves mobiles à l'intérieur de ces cadavres. En dilacérant ces derniers on constate que à peu près tous les œufs (1) renferment des larves mûres. Un certain nombre de larves sont écloses. Dans une femelle j'ai noté le nombre maximal, 152 larves libres mobiles ; les larves non encore écloses ici étaient rares.

OBSERVATION IV. — On place quatre femelles dans le liquide de Barbagallo où on les laisse séjourner 24 h. à la température de la pièce. Ensuite on les lave et on les dépose dans une boîte de PETRI avec de l'eau de fontaine ; on place à l'étuve à 28°. 24 h. après chez trois femelles on constate la présence des larves mûres non sorties de l'œuf ; dans une femelle on note deux larves mobiles.

OBSERVATION V. — On prend cinq femelles (ayant séjourné comme dans les observations précédentes dans les eaux de lavage — à la température de la pièce (20-22°) ; on les met dans de l'eau distillée (après refroidissement) qu'on vient de faire bouillir. Le flacon est bouché à l'émeri, il n'y a pas de bulles d'air. On place ce flacon à 25°. 28 h. plus tard, dans les cadavres on observe des larves mûres encloses dans l'œuf de même que quelques larves libres présentant de faibles mouvements.

Ces observations nous conduisent à conclure (avec quelques restrictions que pour la formation de la larve l'abaissement de la température est le seul facteur indispensable ; l'absence d'oxygène (v. l'observation V) ne gêne pas le développement de la larve.

Il en est tout autrement lorsqu'il s'agit des larves rhabditoïdes déjà écloses. Dans la plupart de nos expériences leur survie ne dépassait pas 6-8 heures, le lendemain on les trouvait toutes mortes. Dans une seule observation quelques rares larves après un séjour de 24 h. (après l'éclosion) à 28° présentaient de faibles mouvements ; elles étaient fortement vacuolisées. L'eau de fontaine ne convient pas aux larves écloses.

On peut très facilement suivre l'éclosion des larves. Il est à noter que c'est tantôt l'extrémité céphalique, tantôt le bout caudal qui sort le premier. Pendant ses mouvements à l'intérieur de l'œuf la larve finit par percer l'enveloppe à un endroit tout près de l'apex.

(1) Il s'agit des œufs qui étaient déjà segmentés au moment de l'expulsion d'ankylostome. Par contre les œufs représentés par une seule cellule n'ont subi aucun développement.

L'orifice produit est toujours du même diamètre, inférieur à l'épaisseur de la larve.

Si c'est l'extrémité antérieure qui sort la première la larve se dégage assez vite. Par contre, dans les cas où c'est l'extrémité caudale qui s'engage la première; le plus souvent la larve est comme pincée — toujours au même endroit — au niveau de l'intervalle entre les deux renflements de l'œsophage; on voit là un sillon qui se déplace si la larve fait des progrès dans sa libération. Assez souvent après avoir présenté des mouvements en balancier pendant 15-30 m. la larve n'arrive pas à se libérer; ses mouvements cessent d'abord pour quelque temps pour recommencer plus tard; finalement tout mouvement cesse — la larve est morte.

Nous recommandons pour les travaux pratiques de parasitologie notre méthode où l'on opère avec les femelles entières: on a là un moyen d'avoir à sa disposition des centaines de larves. Il est probable qu'en se servant du liquide physiologique (ou encore mieux, de la solution de RINGER) on aura une survie des larves plus longue qu'avec l'eau de fontaine.

Dans toutes les observations que j'ai rapportées ici les femelles d'ankylostomes avant d'être placées dans les conditions de l'expérience étaient gardées pendant 12-15 h. dans les eaux de lavage. L'oxygène dissous dans ces eaux suffit à ce que la segmentation débute: en effet, au bout de ce laps de temps la plupart de nos embryons passe du stade à 4 (ou 8) blastomères au stade blastula. A ce point de vue nos expériences doivent être reprises: il faut déterminer jusqu'à quel stade la présence d'oxygène est nécessaire. Car à partir d'un certain stade la segmentation une fois déclenchée peut se poursuivre même en absence d'oxygène. L'oxygène n'est indispensable que pour mettre en branle le développement de l'embryon.

Dans certaines localités d'Adjaristan (p. ex. à Cobouléti), comme l'a montré MCHEDLIDZE, l'ankylostomose se rencontre à peu près dans 100 o/o de la population. Le climat très humide d'Adjaristan permet de comprendre cette extension de l'ankylostomose. Par contre, l'invasion en général n'est pas intense; dans la plupart des cas il s'agit de porteurs sans manifestations cliniques: on ne note pas d'éosinophilie dans le sang, l'anémie fait défaut également. Après le traitement le malade expulse quelques exemplaires d'ankylostomes. Cependant, on rencontre des cas rares d'une infestation intense où l'état général du malade est gravement atteint (anémie avec taux d'hémoglobine abaissé à 10-15 o/o, etc.).

Cette extension très large de l'ankylostomose — telle qu'on ne la trouve guère que dans les mines — nous a paru difficile à concilier avec le mode cutané de l'invasion.

On a établi que le phénomène de migration dans les cas de pénétration de la larve strongyloïde par voie buccale n'est pas obligatoire : cette migration n'aurait lieu que chez les hôtes erratiques tandis qu'elle serait omise chez les hôtes normaux.

J'ai admis — comme hypothèse de travail — que la larve rhabditoïde protégée par l'enveloppe de l'œuf est capable de déterminer l'infection par voie buccale.

Pour démontrer cette hypothèse j'ai essayé d'infester un jeune chat (d'environ 600 grammes). Voici le compte-rendu de cette expérience.

3 juillet : A ce chat on donne à ingérer avec du lait une femelle d'ankylostome qui a séjourné pendant 24 h. à la température de 28-30°. L'examen microscopique préalable (par transparence — sans écraser la femelle) montre que ce cadavre renferme de nombreuses larves libres et des larves non encore sorties de l'œuf (celles-ci sont animées d'un mouvement de rotation).

On s'assure que le chat a bien ingéré cet exemplaire d'ankylostome.

4 juillet : Le chat a l'air indisposé, il mange peu. On lui donne à ingérer encore une femelle ayant séjourné 24 h. à 28° (elle renferme quelques larves libres mobiles, des larves non écloses, certaines parmi celles-ci présentent un mouvement de rotation, d'autres — plus jeunes — sont immobiles).

Dans la nuit le chat vomit à plusieurs reprises : sur le plancher de la pièce se trouvent des îlots mousseux des matières vomies ; on y constate les restes du lait et du pain non digérés, d'autres îlots sont formés exclusivement par une sécrétion liquide visqueuse (probablement des mucosités provenant des bronches).

5 juillet : On examine au microscope les matières vomies — on n'y trouve ni larves ni œufs.

Le chat semble malade, il refuse de manger et de boire. Cependant vers le soir il joue un peu, mais sans entrain.

6 juillet : Dans la matinée le chat ne boit pas son lait. Vers midi on réussit à lui faire ingérer une femelle d'ankylostome dans du lait (1).

Vers 1 h. de l'après-midi le chat commence à bien manger ; il joue très volontiers.

9 juillet : Le chat reçoit encore une femelle d'ankylostome (2).

2 août : Les selles du chat sont recueillies ; on les examine direc-

(1) Séjour de 24 h. à 23° ; le cadavre renferme un grand nombre de larves non sorties de l'œuf et des stades en têtard, mais pas de larves libres.

(2) Séjour de 22 h. à 23° ; on note la présence de larves non sorties de l'œuf animées d'un mouvement de rotation.

tement et après les avoir traitées par la méthode de FÜLLEBORN. On ne trouve pas d'helminthes.

Après mon départ de Batoum, M. le docteur MCHEDLIDZE a eu l'amabilité de faire examiner à plusieurs reprises les selles du chat en expérience ; les résultats ont été négatifs.

L'indisposition qu'a présentée le chat deux jours après le premier essai d'infestation semble plaider en faveur d'une migration des larves suivant la voie des bronches. L'absence de réaction dans les essais suivants pourrait être expliquée par une sorte d'immunité acquise.

En somme ces expériences doivent être reprises et si je me décide à les publier telles quelles, ceci tient à ce que je ne compte pas pouvoir y revenir bientôt.

Batoum, Station tropicale.

Notes sur un culicide méditerranéen,

Theobaldia longearcolata Macq.,

Par E. ROUBAUD et J. COLAS-BELCOUR.

Theobaldia (*Allotheobaldia*) *longearcolata* Macq. est un moustique particulièrement répandu dans l'Afrique du Nord et la région méditerranéenne. Son aire d'extension, qui s'étend jusqu'à l'Afrique du Sud, se montre, dans la zone tempérée, nettement plus méridionale que celle de l'espèce commune du genre, *Theob. annulata* Schr., espèce plus répandue dans les régions froides. Cependant, au sens large, les deux espèces manifestent une intrication curieuse de leur zone d'extension. C'est ainsi que *Theobaldia longearcolata* est signalée par différents auteurs aux environs de Paris (1) et que l'un de nous (J. COLAS-BELCOUR) l'a rencontrée dans le Calvados (Condé-s.-Ifs), tandis que *Theobaldia annulata*, d'autre part, a été observée jusque dans le Sud algérien (Surcouf) et le Sud tunisien (oasis de Tozeur, J. COLAS-BELCOUR) (2).

Si les habitudes hémophages de *Theobaldia annulata*, qui pique volontiers l'homme et les mammifères et fréquente les habitations, les écuries et les étables, sont bien connues, on est, par contre, assez peu renseigné sur celles de la seconde espèce, *Theob. longearcolata*.

(1) E. SEGUY. *Les Moustiques de France*, Paris, P. Lechevalier, 1923.

(2) *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, t. XX, 1931, pp. 66-72.

Alors que FICALBI (1) considère ce moustique comme phytophage pour n'avoir pas observé qu'il suce le sang, WILLCOCKS (2) en Egypte, mentionne qu'il pique fortement et douloureusement, tandis que G. STOREY (3) déclare qu'il pique rarement les êtres humains. Ce fait est confirmé par les expériences de M. KHALIL, HALAWANI et HILMY (4) qui n'ont pu amener le moustique à piquer des malades, au cours de recherches sur la transmission filarienne.

D'autre part Ed. et Et. SERGENT (5) ont reconnu que *Theob. longearcolata* permet l'évolution de *Pl. relictum*, ce qui tend à faire considérer ce moustique comme très apte à se nourrir sur les oiseaux.

Les expériences que nous avons poursuivies montrent qu'effectivement *Theob. longearcolata* est avant tout un moustique orienté vers l'exploitation trophique des oiseaux et qu'il se présente en commensal attiré des basse-cours. Non seulement les femelles se nourrissent aux dépens des volailles, mais encore leurs larves se développent d'une manière optima dans l'eau souillée par les excréments des volatiles.

Une souche de *Th. longearcolata*, recueillie dans un jardin de Toulon par M. MATHIS, a pu être transportée à l'Insectarium de l'Institut Pasteur de Paris où elle est entretenue depuis plusieurs mois dans un boxe de 2 m³, les larves étant nourries de fiente de volailles.

Les observations suivantes ont pu être faites.

I. *Homodynamie*. — Cette souche apparaît active toute l'année; elle ne traverse pas de phase de diapause ou d'arrêt métabolique obligatoire, à un stade quelconque, au cours de l'hiver. Des pontes, des larves à tous stades et des imagos des deux sexes ont été recueillis par M. MATHIS en fin décembre, et, depuis cette époque, les générations du moustique se sont succédé sans arrêt, à la température voisine de 25° C. du boxe d'élevage. L'homodynamie, au moins pour cette souche, paraît la règle : le moustique est apte à évoluer et se reproduire en toute saison de l'année pourvu que la température s'y prête. Nous avons montré (1926) (6), que pour *Th. annulata* Schr. il en était de même et l'activité reproductrice en hiver de cette espèce a été à nouveau constatée récemment par G. DE BOISSEZON (1932) (7).

(1) Revisione sistematica della famiglia delle Culicidae Europeæ, Florence, 1896, p. 236.

(2) *Bull. Soc. Ent. Egypte*, 1917, t. X, pp. 79-90. *Rev. appl. Ent.*, t. VI, p. 239.

(3) *Bull. Soc. Ent. Egypte*, 1919, t. XII, pp. 84-106.

(4) *Jl. Egypt. Med. Ass.*, juin 1932.

(5) *Ann. Inst. Pasteur Paris*, 1918, t. XXXII, pp. 382-388.

(6) *C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXXII, 1926, p. 871.

(7) *Ann. Parasit. Hum. Comp.*, t. X, 1^{er} nov. 1932, p. 494.

II. *Attraction ornithophile*. — Depuis six mois nos moustiques sont entretenus avec la plus grande facilité sur des volailles. A différentes reprises, un lapin a été mis jour et nuit à leur disposition dans le boxe. Pas une femelle n'a pris de sang sur cet animal.

Pas une seule fois l'attaque de l'homme n'a pu être non plus observée dans les conditions de l'observation en plein jour. Par contre on a pu remarquer, d'une façon constante, l'attraction spéciale exercée par l'odeur humaine sur les mâles. Tout visiteur pénétrant dans le boxe d'élevage en plein jour est immédiatement visité par les mâles, mais non par les femelles. Cette réaction d'attraction qui cesse d'ailleurs rapidement au bout de quelques instants de séjour dans le boxe pourrait prêter à une interprétation abusive, comme une tendance agressive du moustique à l'égard de l'homme.

A différentes reprises, un lapin et une poule ont été placés simultanément pendant une nuit à la disposition des moustiques dans le boxe d'élevage. Le lendemain matin, les femelles gorgées de sang étaient recueillies, sacrifiées, et la nature du sang ingéré, contenu dans leur estomac, contrôlée microscopiquement. Les résultats obtenus furent les suivants :

Nuit du 2 au 3 juin, 1 ♀ gorgée examinée, sang : oiseau.

Nuit du 6 au 7 juin, 4 ♀ gorgées examinées, sang : oiseau.

Nuit du 12 au 13 juin, 4 ♀ gorgées examinées, sang : oiseau.

Nuit du 15 au 16 juin, 3 ♀ gorgées examinées, sang : oiseau.

Nuit du 19 au 20 juin, 4 ♀ gorgées examinées, sang : oiseau.

Nuit du 4 au 5 juillet, 2 ♀ gorgées examinées, sang : oiseau.

Une expérience du même ordre avait été précédemment tentée par l'un de nous à l'Institut Pasteur de Tunis, en mai 1931. Dans le même local furent placés simultanément un pigeon et un lapin au contact de femelles de *Th. longiareolata* aimablement recueillies par le Dr VILLAIN, du service antipaludique. Les résultats obtenus furent les suivants :

14 mai : 5 ♀ gorgées : sang de pigeon.

17 mai : 3 ♀ gorgées : sang de pigeon.

20 mai : 4 ♀ gorgées : sang de pigeon.

Ces faits font bien ressortir l'attraction trophique tout à fait élective exercée par les oiseaux sur ce moustique.

Ajoutons que *Theob. longiareolata* ne pique pas seulement les volailles ; il attaque aussi très spécifiquement les passereaux. Un canari placé, dans la nuit du 29 au 30 juin, dans le boxe d'élevage précédent a permis un fort repas de sang à dix moustiques.

On peut conclure de ces données que *Th. longiareolata* est un Culicide particulièrement ornithophile. Il ne paraît piquer l'homme et les mammifères que d'une manière exceptionnelle, ce qui est conforme aux constatations générales des auteurs.

On peut se demander pour quelles raisons ce moustique est surtout localisé aux régions méditerranéennes et ne se montre pas plus abondamment répandu dans les régions septentrionales. Il semble que la raison puisse en être cherchée dans sa thermophilie ainsi que dans son caractère homodyname qui ne l'astreint pas à l'hibernation.

Le développement pérenne du moustique est possible lorsque la température hivernale est favorable. Le cas est largement réalisé dans les régions tempérées chaudes. Mais, dans les régions à hiver rigoureux, le développement pérenne du moustique ne sera possible que s'il trouve à la fois des basses-cours chaudes où il puisse s'alimenter et des eaux de développement à température favorable. Ce cas ne peut guère être réalisé que d'une manière exceptionnelle dans des locaux soumis au chauffage artificiel.

Contribution à l'étude de la biologie de l'*Argas vespertilionis* Latr.,

Par J. COLAS-BELCOUR.

Bien que l'*Argas vespertilionis* soit répandu dans tout l'Ancien Continent, où il parasite divers Cheiroptères (STILES (1) en énumère 15 espèces), son étude morphologique n'a pu être complétée et son cycle suivi que ces dernières années par PATTON et CRAGG (2) aux Indes.

Nous avons récolté plusieurs jeunes nymphes de cet acarien à Tunis, lors de la destruction d'un auvent de bois qui abritait de nombreuses pipistrelles (*Pipistrellus (Vespertilio) kuhlii*). Ne pouvant conserver ces chauve-souris en captivité et tenant compte des observations de CROSS et PATEL (3) qui avaient trouvé ces argas sur des oiseaux de basse-cour, nous avons essayé, mais vainement, de les nourrir sur des pigeons; certains paraissaient se fixer, mais aucun ne se gorgeait. Nous avons pu les nourrir sur souris, mais cet essai fut interrompu par notre départ.

(1) STILES (C. W.) et NOLAN (M. O.). *Bull. Nat. Inst. of Health*, n° 155, 1930, p. 626.

(2) PATTON (W. S.) et CRAGG (F. W.). *A textbook of Medical Entomology*, 1913, p. 584.

(3) CROSS (H. E.) et PATEL (P. G.). *Dept. Agr. Punjab Veter. Bull.*, n° 9, 1922 (in *Rev. Appl. Ent. B.*, t. XI, 1923, p. 217).

Bull. Soc. Path. Ex., n° 7, 1933. 62

De retour en France, nous avons recherché cet argas sur des pipistrelles (*Pipistrellus pipistrellus*) qui abondent, en juillet-août, derrière les volets d'une maison peu habitée à Condé-sur-Ifs (Calvados). Dès 1925, nous avons récolté, sur l'une de ces chauves-souris, deux larves rapportées à cet acarien. Ce gîte existait encore en 1931-1932 et près de la moitié des pipistrelles étaient parasitées. Ces larves, à la vérité peu nombreuses sur chaque hôte (jamais plus de 4), étaient fixées au niveau du cou ou de la région axillaire, plus rarement à la nuque ou dans la région sternale; jamais nous ne les avons rencontrées sur la membrane alaire comme l'ont noté PATTON et CRAGG (1) sur *Scotophilus kuhlii*. A l'encontre de ces auteurs qui ont récolté les divers stades de cet argas sur des chauves-souris capturées au gîte, pendant le jour, nous n'avons trouvé sur nos pipistrelles que de jeunes larves; notre observation confirme sur ce point celles de NUTTALL (2). Il est vraisemblable qu'adultes et nymphes doivent se trouver dans un gîte d'hiver, tout autre que le gîte occasionnel où nous les capturons pendant l'été.

Le sang des pipistrelles parasitées n'a montré, sur frottis colorés ou à l'examen à l'ultra, aucun spirochète, bien que cet argas soit, d'après GONDER (3), le vecteur de *Sp. vespertilionis* Nicolle et Comte.

Il est à noter également que ce gîte d'été était fréquenté, outre les pipistrelles, par une autre chauve-souris, *Barbastella barbastellus*, qui hivernait seule dans des caves voisines. Été comme hiver, *B. barbastellus* n'a présenté, jusqu'ici, aucune larve d'argas (4); elle hébergeait par contre de nombreux acariens de l'espèce *Pteropus vespertilionis* que nous n'avons jamais retrouvés sur les pipistrelles, et une puce différente de celle observée sur ces dernières; l'examen du gîte hivernal des barbastelles a été négatif.

Les larves de l'*A. vespertilionis* sont fixées à leur hôte par un rostre remarquablement développé et n'en peuvent être détachées sans dommage. Il n'est donc possible de les recueillir qu'après sacrifice des chauves-souris ou quand elles les abandonnent spontanément, ce qui nécessite la conservation des pipistrelles en captivité. Nous avons dû opter pour cette dernière solution, la seule nous donnant des larves suffisamment gorgées. Pour nourrir nos chauves-souris, nous avons eu recours à une mouche, *Musca corvina* qui, à la fin de l'été, envahit certaines pièces peu habitées où elle vient

(1) PATTON et CRAGG. *Loc. cit.*, pp. 637 et 638.

(2) NUTTALL (G. H. F.) et WARBURTON (G.). *Ticks. A monograph of the Ixodoidea*. Part. II, Append. V, 1911, p. 328.

(3) GONDER (R.). *Arch. a. Kaiserl. Gesundh.*, t. XXVII, 1908, p. 408.

(4) Cette espèce appartient cependant aux cheiroptères, sur lesquels, d'après STILES, on a trouvé l'*Argas vespertilionis*.

former de véritables essaims de plusieurs centaines d'individus ; cette particularité nous a rendu aisée l'alimentation de nos pipistrelles, difficulté, d'après ROLLINAT et TROUESSART (1), rencontrée dans toute étude biologique de ces mammifères.

Pour une dizaine de pipistrelles recueillies en juillet-août 1931, et conservées, à la température du laboratoire, dans des cristallisoirs garnis de papier-filtre, nous avons récolté 9 larves totalement gorgées. Fixées lors de la capture des chauves-souris, depuis un temps inconnu, elles ne se sont détachées qu'après 15-21 jours. Cette durée certainement inférieure à celle de leur repas larvaire, est déjà sensiblement plus longue que celle observée aux Indes par PATTON et CRAGG (10-12 jours) ; la température ambiante a vraisemblablement quelque influence sur cette donnée, comme l'a fait remarquer NUTTALL. Nous avons constaté en outre que des larves sont restées fixées sur l'hôte pendant 41 et 46 jours et ne se sont détachées qu'à la mort de l'animal ; ce fait confirme encore que nos chiffres, donnés ci-dessus, étaient bien inférieurs à la réalité. Cette longue durée du parasitisme larvaire explique que les larves soient fréquemment rencontrées sur les chauves-souris et soient si nombreuses dans toutes les collections, alors que les nymphes et surtout les adultes, nourris en quelques instants, sont si rarissimes. NEUMAN, en effet, n'a pu donner une description des adultes de l'*A. vespertilionis* dans sa monographie, et NUTTALL (2) qui n'a pu étudier le mâle de cette espèce, base sa description de la femelle sur un spécimen qu'il reconnaît lui-même n'être qu'une variété de l'*A. vespertilionis* recueillie sur les pingouins du Cap ; cette lacune, à notre connaissance, n'a été comblée que par les élevages et les prospections de gîtes particulièrement abondants de PATTON et CRAGG.

Nos larves, recueillies en août et début de septembre 1931, ont mué après 15, 18 et 22 jours. Conservées au laboratoire, elles ont tout d'abord refusé de piquer la souris, sur laquelle nous étions obligé de les nourrir, n'ayant pu conserver plus longtemps les chauves-souris. Depuis elles se sont gorgées sur ce rongeur le 22 janvier et le 18 février ; leur repas a duré d'une 1/2 h. à 1 h. Les nymphes du 2^e stade ont éclos le 11 mars et jours suivants et se sont nourries le 28 avril (durée du repas 30-55 m.). Finalement deux mâles furent obtenus le 6 juin 1932 qui, depuis, furent nourris plusieurs fois sur souris.

Plusieurs remarques sont à faire sur cette observation, malheu-

(1) ROLLINAT (R.) et TROUESSART (E.) (*Mém. Soc. Zoo. France*, t. IX, 1896, p. 237), ont vu un murin (*Vespertilio murinus*) captif consommer, en une nuit, 1.000 mouches et près de 1.500 la nuit suivante.

(2) NUTTALL et WARBURTON. *Loc. cit.*, part. I, 1908, p. 35.

reusement trop restreinte vu le peu de larves gorgées dont nous disposons. Le temps mis par cet argas à parcourir son cycle, de la mue larvaire à l'état adulte, a été beaucoup plus long que celui noté par PATTON et CRAGG (32 jours) pour leur élevage sur chauve-souris, même réserve faite quant à l'action de la température ; la mortalité de nos nymphes a été très élevée : sur 9 larves recueillies, deux seulement furent conduites jusqu'à l'adulte, alors que des élevages d'ornithodores ont pu souvent être amorcés avec moins d'éléments ; les argas ont dû être conservés longtemps à jeun avant de se fixer sur la souris, et encore a-t-il fallu insister assez longtemps avant qu'ils ne se décident à se nourrir sur cet animal ; la durée des repas est sensiblement la même que dans l'expérience de PATTON et CRAGG ; la taille des deux mâles obtenus est enfin loin d'atteindre celle indiquée par les auteurs anglais ($3,3-3,4 \times 3,1-3,4$ mm. au lieu de $4,2-4,8 \times 4-5$ mm.).

Nous nous proposons de reprendre comparativement le cycle sur chauve-souris et sur souris, mais, de ces quelques observations, il se dégage déjà que si cet argas en rapport étroit avec les cheirop- tères se nourrit sur tout autre mammifère, c'est là un fait anormal, conséquence d'un jeûne prolongé et, semble-t-il, peu favorable à l'acarien. A ce parasitisme exceptionnel peuvent se rattacher les observations de GEDOELST, au Mozambique, rapportées par BRUMPT (1), qui signalent l'*A. vespertilionis* comme s'attaquant à l'homme ; ce fait fut confirmé par BEDFORD (2) qui l'a rencontré également sur le chat. Dans d'autres espèces d'argas en relation étroite avec tel ou tel hôte, on a fréquemment noté des parasitismes de ce genre, tel le cas bien connu de l'*Argus reflexus*, acarien colombophile qui, poussé par le jeûne, émigre des pigeonniers abandonnés pour envahir les habitations et piquer l'homme (BENOIT-BAZILLE (3) et BRUMPT (4)).

En résumé, nous avons trouvé en Normandie, plusieurs années de suite, au même endroit, des larves d'*A. vespertilionis* sur des pipistrelles. Ces larves restent fixées à leurs hôtes beaucoup plus longtemps qu'il n'a été noté jusqu'ici ; ce fait explique la fréquence avec laquelle elles sont signalées en divers points, alors que nymphes et surtout adultes sont rarement rencontrés. Les nymphes obtenues ont pu être nourries, après un long jeûne, sur souris ; mais certains faits nous font penser que c'est là un parasitisme apparemment peu favorable à cet acarien.

(1) BRUMPT (E.). *Précis de Parasitologie*, Paris, 1927, p. 899.

(2) BEDFORD (C. A. H.). *18th Rep. of. the Director of Vet. Serv. and Anim. Industry of U. South Africa*, 1932, part. I, p. 283.

(3) BENOIT-BAZILLE (H.). *Mém. Soc. Zoo. Fr.*, t. XXII, 1909, p. 261.

(4) BRUMPT (E.). *Loc. cit.*, p. 895.

Mémoires

Sur le comportement du Virus Rabique en A. O. F. et en A. E. F.,

Par P. REMLINGER.

La thèse récente de M. CURASSON (1) et un long article de MM. NICOLAU, MATHIS et CONSTANTINESCO (2) paru dans le dernier numéro des *Annales de l'Institut Pasteur* attirent à nouveau l'attention sur la Rage en A. O. F. Nous demandons la permission d'exposer ici très brièvement et pour la dernière fois notre sentiment sur cette question étudiée à l'Institut Pasteur de Tanger depuis de nombreuses années.

Envisageant successivement le comportement du virus fixe et celui du virus de rue, nous donnerons notre opinion en termes dépourvus de toute ambiguïté mais en évitant avec le plus grand soin tout ce qui pourrait ressembler à une polémique.

I. — VIRUS FIXE

Il a été avancé que le virus fixe de l'Institut Pasteur de Paris se comportait au Sénégal de façon toute particulière et qu'il amenait la mort du lapin après un laps de temps très variable : 17, 19 et jusqu'à 53 jours après l'inoculation intra-cérébrale.

Les expériences que MM. MARCEL LEGER et TEPPAZ ont entreprises à Dakar avec un virus fixe que nous leur avons envoyé de Tanger ne sont pas du tout en faveur de ces singularités de comportement.

(1) M. G. CURASSON. La rage en Pathologie Exotique. *Thèse de Méd. vét.*, Paris, juin 1933 (Vigot, éd.). M. le docteur CURASSON étudie la rage non seulement en A. O. F. et en A. E. F. mais encore en Afrique Occidentale Anglaise, à Madagascar, en Afrique du Nord et du Sud, en Egypte, au Soudan Anglo-égyptien, en Erythrée, en Somalie, aux Indes Anglaises et Néerlandaises, aux Antilles, en Indochine, en Syrie, Palestine, Irak... Son travail est suivi d'une bibliographie très complète à laquelle nous renvoyons le lecteur.

(2) S. NICOLAU, C. MATHIS et Mme Val. CONSTANTINESCO. La rage autochtone (maladie du chien fou) en Afrique Occidentale française. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, juin 1933, pp. 778-839.

Entre leurs mains puis entre les mains de M. MATHIS, le virus fixe s'est comporté au Sénégal comme au Maroc, c'est-à-dire comme à Paris même et, depuis 1922 jusqu'à aujourd'hui, le virus est passé à Dakar de lapin à lapin sans interruption aucune et sans incident d'aucune sorte. De même, à Brazzaville, les passages du virus fixe n'ont jamais donné lieu au moindre mécompte : « Le virus se comporte comme sous les climats tempérés et nous n'avons encore remarqué aucune particularité digne d'être notée » lisons-nous dans le Rapport de M. VAUCÉL sur le fonctionnement de l'Institut Pasteur de Brazzaville en 1930. Nous sommes ainsi amené à rapprocher les irrégularités du virus fixe au Sénégal à des irrégularités analogues observées par nous à Constantinople, à notre arrivée en 1900. Là aussi le virus présentait des cascades singulières. « Il n'était pas fixe ». Je me suis avisé bien vite de ce que les passages étaient faits en ordre dispersé, tantôt par un préparateur, tantôt par un autre et que là devait être la cause du mal. Du jour où mon excellent adjoint le docteur HAIM NAÏM et moi, nous sommes astreints à faire nous-mêmes toutes les trépanations, la fixité est revenue comme il était prévu et elle ne s'est jamais démentie pendant les dix années que nous avons passées en Turquie. Ainsi, c'est beaucoup moins du côté du virus, du climat, du lapin que du côté de l'opérateur qu'il faut chercher la cause du manque de fixité du virus. Trépan ou foret maniés d'une main inhabile, trituration de la substance nerveuse avec une baguette de verre mal refroidie, émulsion aspirée dans une seringue trop chaude ; aiguille obturée par un grumeau ; liquide qui reflue en arrière du piston ou qui poussé trop brutalement sous la dure-mère ressort presque en totalité par l'orifice osseux ; toutes ces fautes de technique sont certainement plus faciles à éviter dans le laboratoire moderne d'une grande ville européenne que par 45° de chaleur dans une installation de fortune. Le climat peut agir ainsi d'une façon indirecte. Loin de nous en tout cas la pensée de jeter la pierre à qui que ce soit !

II. — VIRUS DE RUE

Il existe un parallélisme très étroit entre ce qui se passe en A. O. F. pour le virus fixe et pour le virus de rue.

MM. MARCEL LEGER et TEPPAZ nous envoient à Tanger un virus de rue provenant de Tivaouane, petite localité de la voie ferrée de Dakar à Saint-Louis. Au cours des passages, il se comporte absolument comme le virus marocain, c'est-à-dire français. De même, nous faisons parvenir à MM. MARCEL LEGER et TEPPAZ un virus de rue marocain. A Dakar, son inoculation aux animaux ne prête à aucune considération particulière. Cependant, on n'a pas manqué

de nous objecter que le virus de Tivaouane pouvait être un virus importé de provenance européenne et qu'il existait en A. O. F. un virus indigène dit de l'oulou-fato ou de la maladie du chien fou, virus spécial, non transmissible à l'homme par morsure et seul intéressant. Soit ! Un cas d'oulou-fato parfaitement typique s'étant présenté à Bamako à l'observation de M. le docteur SULDEY et de M. le docteur-vétérinaire CURASSON, nous procédons avec ce virus et un virus de rue tangérois à une expérience d'immunité croisée qui démontre l'identité absolue de la maladie du chien fou et de la rage des rues classique. Des expériences identiques sont entreprises à Brazzaville par MM. VAUCEL, BOISSEAU et SALAÛN puis par MM. VAUCEL et SALAÛN. Elles portent sur des virus de l'A. E. F. et sur le virus de l'Institut Pasteur de Paris et aboutissent à la même conclusion : identité de virus africain et européen. A Kindia aussi (Guinée française), la rage s'est comportée comme en Europe et il résulte en particulier des recherches de M. DELORME que l'oulou-fato ou rage indigène ne s'y distingue en rien de la rage classique européenne.

Dans ces conditions, les auteurs qui veulent à toute force individualiser — j'allais dire monter en épingle — la « maladie du chien fou », se rabattent sur deux caractères à la vérité accessoires, du point de vue scientifique pour tout au moins : 1^o la difficulté de la fixation du virus sur le lapin ; 2^o son atténuation pour les animaux et en particulier pour l'homme. Que faut-il penser de ces deux signes différentiels ?

1^o *Difficulté de la fixation.* — Les virus de rue africains passent pour se fixer difficilement sur le lapin, pour se perdre même fréquemment au cours des passages. Le fait est loin d'être constant et de nombreux auteurs sont parvenus à fixer leur virus dans les délais habituels. A Brazzaville, MM. VAUCEL, BOISSEAU et SALAÛN ont eu une fois de la difficulté et, une autre fois, n'en ont éprouvé aucune. A Ouagadougou (Haute-Volta) où il n'y a jamais eu de chien importé d'Europe (le fait est facile à constater dans une localité de 300 Européens, située à plus de 600 km. du chemin de fer et à plusieurs milliers de kilomètres de la côte), M. DABBADIE part du cerveau d'un chien atteint d'ouloufato typique, fait trois passages successifs sur lapin et sur cobaye et observe des résultats identiques à ceux qui auraient été réalisés avec un virus européen (1). M. DABBADIE n'ayant pu continuer ses

(1) Le travail de M. DABBADIE est daté de Bobo-Dioulasso. Les médecins, qui, dans des conditions aussi peu favorables aux recherches parviennent quand même à faire un peu de science et à obtenir des résultats aussi précis et aussi intéressants ont vraiment droit à notre reconnaissance et à notre admiration.

passages faite d'animaux, le virus est envoyé à Bamako à MM. CURASSON et DISCHAMPS qui effectuent de cynocéphale à cynocéphale 11 passages sans observer de modification de virulence. La mort survient régulièrement du 8^e au 12^e jour et, après le 12^e passage sur cynocéphale, le virus se montre toujours nettement virulent pour le lapin et pour le cobaye. L'origine autochtone de cette souche étant au-dessus de toute contestation, on conçoit l'importance toute particulière de ces expériences. Il est inutile de multiplier ces citations. Si les virus de rue africains passent pour se fixer difficilement c'est en grande partie parce qu'ils ont été plus étudiés que d'autres à ce point de vue. Au Maroc où, ainsi que nous l'avons montré avec M. BAILLY, la rage de rue ne diffère en rien de la rage de rue européenne, certains virus se fixent très rapidement, après 6-8 passages par exemple. D'autres, après 15-20 passages, montrent des allongements de la période d'incubation, au lieu des raccourcissements attendus, en sorte que, découragé, on renonce à poursuivre les inoculations. Nous sommes bien convaincu de ce que des virus européens, étudiés dans les mêmes conditions, donneraient lieu à des constatations identiques. Au surplus, c'est bien le cas de rappeler ici ce que nous disions à propos du virus fixe à savoir que c'est moins du côté du virus que de celui de l'opérateur qu'il convient de chercher la cause de certains manques de fixité.

2^o *Atténuation.* — La liste est longue aujourd'hui des personnes qui, mordues par un chien atteint d'oulou-fato et n'ayant pas suivi le traitement antirabique, ont succombé à la rage. On la trouvera dans l'excellente thèse de M. CURASSON. MM. NICOLAU, MATHIS et CONSTANTINESCO ont même publié l'observation d'un enfant qui, mordu à l'avant-bras, est mort de rage malgré le traitement. Il persiste, en dépit de ces faits, une croyance assez répandue à l'atténuation du virus africain. Sur quoi repose-t-elle? Assurément sur l'ignorance d'un certain nombre de données, essentielles cependant, relatives à la rage.

a) Un préjugé très répandu est que la grande majorité des personnes mordues par un chien enragé prendrait la maladie si elle n'était pas soumise au traitement pasteurien. Dès lors, lorsqu'on voit des mordus par un chien atteint d'oulou-fato ne pas suivre le traitement et ne pas contracter la rage, on en conclut que la maladie n'est pas transmissible à l'homme. En réalité, il résulte de nombreuses statistiques européennes, les unes antérieures, les autres postérieures à l'ère pasteurienne, que 85 o/o environ des personnes mordues par un animal enragé et non soumises à la cure échappent à la maladie. Pourquoi en est-il ainsi? Vraisemblablement parce qu'il y a des sujets réfractaires à la rage comme il y a des sujets réfractaires à toutes les maladies infectieuses, mais aussi

sans doute parce qu'il y a des virus qui se disséminent mal dans l'organisme animal, n'arrivant que difficilement aux glandes salivaires en sorte que la bave n'est pas ou n'est que peu virulente. Quoi qu'il en soit, envisager exclusivement ou presque exclusivement ces faits négatifs c'est cultiver le paradoxe et rappeler vraiment trop le cas de ce voleur qui, au témoignage d'un témoin oculaire, prétendait opposer celui de « plus de 100 personnes qui ne l'avaient pas vu ! ».

b) La littérature s'est emparée de la rage et a créé un type de chien enragé, fortement ancré dans l'imagination non seulement des profanes mais encore des médecins. C'est celui de l'animal déchaîné qui, l'œil en feu, une bave sanguinolente à la bouche, parcourt les campagnes à la vitesse d'un bolide, mordant sauvagement tous les êtres vivants qui passent à sa portée. Les vétérinaires sont seuls à reconnaître la rage chez le tout jeune chien qui, en mordillant, a l'air de s'amuser, chez l'animal adulte qui paraît avoir un os dans le gosier et les propriétaires manquent rarement de s'insurger contre le diagnostic posé. De même l'ouïou-fato (Rareté des accès furieux, peu de tendance à mordre, rapidité d'évolution est loin de correspondre au type précité et il est bien tentant, pour une personne non spécialisée dans l'étude de la rage, de la tenir pour une forme atténuée de la maladie. Ne paraît-il pas *a priori* paradoxal de prétendre qu'il n'existe aucun rapport entre l'acuité des symptômes de fureur et l'agressivité du virus et même que les formes tranquilles, paralytiques, recèlent en général un germe plus exalté que les formes furieuses ? Il y a cependant longtemps que nous insistons sur ce point.

Et maintenant, tout est-il erreur dans cette affirmation que le virus africain autochtone présente souvent par rapport à la rage classique un certain degré d'atténuation ? Assurément non, nous avons toujours soutenu que le virus rabique constituait ce que M. METCHNIKOFF appelait un « bon virus ». Il ne comporte ni espèces, ni groupes, ni variétés, mais un ensemble bien homogène d'individus que séparent seulement des différences accessoires d'agressivité. Or — d'une façon générale et sauf cas particuliers (1) — il semble qu'au point de vue de cette agressivité, les virus occidentaux (Europe occidentale, Afrique) plus bénins s'opposent aux virus orientaux (Pays Balkaniques, Russie, Indes) plus actifs et plus dangereux, la cause de cette différence résidant vraisemblablement dans la plus grande fréquence ici des passages par le loup et le chacal. Expérimentalement, cette diminution de virulence peut évidemment se traduire par la fréquence des neuro-infections auto-

(1) Virus renforcés.

stérilisées, la rapidité de l'atténuation en glycérine, l'abaissement du titrage de la dilution, une plus grande résistance des muridés, du chien, de la poule (1), etc. Ces particularités, susceptibles d'être observées chez certaines souches européennes, sont sans doute plus fréquentes avec les souches africaines. C'est notre seule concession à la théorie de l'oulou-fato, rage atténuée. Au surplus la question ne présente — du moment que tout le monde est d'accord pour faire suivre le traitement antirabique aux mordus — qu'un intérêt très secondaire. Elle ne vaut certainement pas les animaux sacrifiés et le temps perdu.

*
**

Notre sentiment sur la rage et le virus rabique en A. O. F. et en A. E. F. peut se résumer dans les deux propositions suivantes :

1° Tout ce qui a été écrit sur certaines difficultés de fixation du virus fixe pourrait sans inconvénient être rayé de la littérature médicale. Le virus fixe se comporte de façon identique sous toutes les latitudes. Presque toujours à l'opérateur et à l'opérateur seul incombent les irrégularités qui se manifestent au cours des passages.

2° Oulou-fato est un terme désuet qui doit disparaître de la nomenclature. Il est synonyme de rage et de rage classique et banale. Toutefois les virus africains (qui ne passent guère que par le chien) sont d'ordinaire moins agressifs que les virus balkaniques et asiatiques qui souvent passent par le loup ou le chacal.

Ce n'est pas à la légère que nous émettons des conclusions aussi dépourvues d'ambiguïté mais c'est sans appréhension que nous attendons le sort que l'avenir leur réserve. Nous considérons pour notre part cette question comme close.

De l'utilisation de la tryparsamide appliquée

au traitement de la trypanosomiase nerveuse,

Par A. SICÉ, E. COUSIN et P. RIVOALEN.

La tryparsamide a transformé le pronostic de la trypanosomiase nerveuse et abaissé notablement le taux de sa mortalité. Eu égard à l'importance des lésions présentées par le malade, leur amélioration est d'autant plus accentuée que son action a été longtemps

(1) NICOLAU, MATHIS et CONTANTINESCO, *loc. cit.*

prolongée. A la lumière de maints résultats heureux, la plupart des auteurs admettent qu'actuellement elle est l'agent thérapeutique d'élection de cette localisation de l'infection.

L'un de nous, à l'Institut Pasteur de Brazzaville, avait entrepris, avec la collaboration du regretté RICHOU, d'apprécier l'utilisation réelle des diverses doses de tryparsamide prescrites, tandis que se poursuivait, avec sa seule intervention, le traitement des malades. Observer l'influence de la dose ordonnée, de sa voie d'administration sur l'élimination, établir ses déterminations quantitatives dans l'urine et le sang, à des intervalles fixes, rechercher un rapport entre ces diverses données, autant de points qu'il pouvait être utile d'élucider pour apprécier l'action réelle du médicament, son utilisation efficiente pendant la durée du traitement des trypanosomés nerveux, c'est-à-dire de ces seuls malades dont l'équilibre physiologique du liquide céphalo-rachidien était plus ou moins profondément modifié. Ce sont les résultats de ces recherches interrompues, qui ont pu être reprises et continuées, que nous apportons ici.

Nous remercions MM. F. TOULLEC et MERCIER du concours qu'ils nous ont obligeamment prêté; nous leur devons d'avoir pu mener ce travail à bonne fin. La collaboration, que nous ont apportée, en maintes occasions, MM. ALAIN, JOLLY et DANTEG, nous a été particulièrement utile; nous leur en exprimons notre reconnaissance.

Tous les malades, qui font l'objet de la présente étude, sont des noirs d'Afrique, âgés de 20 à 50 ans, hospitalisés, placés dans des conditions d'existence et de régime diététique exactement semblables, n'ayant pour tout traitement que la tryparsamide, administrée à des jours déterminés. En dehors des troubles inhérents à l'évolution de leur infection, ils ne présentaient pas de lésions organiques; en particulier, l'examen du cœur et des reins ne révélait aucun signe susceptible d'influer sur les facteurs que nous observions.

Des importants travaux de JOHN A. FORDYCE, ISADORE ROSEN, C. N. MYERS (1), nous retenions l'indication que les composés arsenicaux, appliqués au traitement de la syphilis nerveuse, s'éliminent rapidement par les urines, que cette élimination, en ce qui concerne particulièrement la tryparsamide, se décèle très tôt, dès l'injection.

Nous avons utilisé la voie intra-veineuse pour l'administration de

(1) JOHN A. FORDYCE, ISADORE ROSEN, C. N. MYERS. Excrétion de l'arsenic par le rein, après injection intra-veineuse de salvarsan, néo-salvarsan, silver-salvarsan et tryparsamide. *Ann. Journal of syphilis*, 1924, vol. VIII, p. 619.

la tryparsamide en solution à 20 o/o, dans de l'eau distillée stérilisée.

S'il est certain que l'arsenic s'élimine non seulement par les urines, mais encore par les fèces, qu'il soit déversé dans l'intestin par la bile, ou qu'il y accède directement par la muqueuse intestinale, de même qu'il peut l'être, par la sécrétion sudorale, la respiration et le mucus bronchique, par les glandes mammaires et, pendant les périodes menstruelles, par la muqueuse utérine, il nous a paru que la voie rénale était de toutes la plus facile à contrôler, parce que, seule de toutes ces voies, elle permet la récolte des excréta à des intervalles réguliers et la surveillance méthodique et précise de cette élimination.

Pour une même dose de tryparsamide injectée, nous avons recherché la durée apparente de son séjour dans le sang.

L'ensemble de ces données pouvait nous aider à apprécier quel était, pour une dose déterminée de tryparsamide injectée, le *quantum* retenu, réellement utilisé par l'organisme de chacun des malades observés, en même temps qu'il renseignerait sur son action chimiothérapique, résultat vraisemblable de combinaisons plus ou moins stables entre le protoplasma cellulaire et ce composé.

Nous avons exprimé en tryparsamide les résultats des dosages, n'ayant pu rechercher — cela n'entraîtrait d'ailleurs pas dans le cadre de ce travail — sous quelle forme et après quelles modifications elle était éliminée. Cette expression nous a paru plus sûre que de recourir à une évaluation en As.

Pour doser l'arsenic dans les échantillons d'urine et de sang dont nous disposons, et rendre le métalloïde justiciable des méthodes rigoureuses de dosage de la chimie minérale, il convenait tout d'abord de minéraliser l'arsenic de la molécule de tryparsamide, manipulation qui avait pour résultat d'amener l'arsenic sous sa forme oxydée au maximum.

Cette minéralisation fut obtenue par la destruction nitrosulfurique, conduite selon la technique de DENIGÈS; du même coup, se trouvaient ainsi éliminées toutes les matières organiques du milieu, qui auraient pu perturber le dosage (Cf. DENIGÈS, *Précis de Chimie Analytique*, t. I, p. 370). Au préalable, nous nous sommes assurés que tous les produits intervenant dans la destruction, la neutralisation, l'acidification finale, les précipitations intermédiaires, étaient rigoureusement exempts d'arsenic.

La prise d'essai des premières mictions, qui suivaient l'injection médicamenteuse, a été de 100 cm³; si leur volume était inférieur à 100 cm³, la manipulation était faite sur le volume total émis. Pour les mictions ultérieures, le volume prélevé a varié de 250 cm³, puis 500 cm³, jusqu'à la totalité des urines émises dans les 24 h., selon la richesse présumée en As.

Le sang recueilli par ponction veineuse, sur oxalate de potasse, a été soumis aux mêmes manipulations; toutefois, nous avons doublé les doses initiales d'acide nitrique pur, afin d'obtenir une destruction totale.

Nous nous sommes trouvés en présence de trois circonstances distinctes, à chacune fut appliquée une méthode de dosage différente.

1° Les échantillons récoltés dans les 3 ou 6 premières heures après l'injection contenaient des quantités massives d'As; le dosage en fut fait par la méthode pondérale classique, sous forme de pyroarséniate de magnésie.

2° La prise d'essai ne contenait que des quantités infimes allant du $1/10^{\text{e}}$ de milligramme au $1/100^{\text{e}}$ de milligramme. Le dosage diaphanométrique à l'aide du réactif de BOUGAULT nous parut incontestablement le procédé de choix. La concentration de ces doses minimales d'arsenic, réparties dans un grand volume de liquide, fut obtenue au moyen d'un tour de main, que nous exposerons dans un instant.

3° Pour les quantités d'arsenic extrêmement faibles, enfin, nous avons eu recours à la technique de CRIBIER, la concentration ayant été effectuée, auparavant, par le même procédé que pour le dosage diaphanométrique. Cet artifice permet d'ailleurs de se mettre aisément dans les conditions d'acidité prévue pour que cette méthode donne des résultats satisfaisants et comparables.

I. ELIMINATIONS MASSIVES. — La précipitation de l'As sous forme d'arséniate ammoniaco-magnésien ne pouvait être provoquée directement dans le liquide de destruction : la présence des phosphates urinaires et de phosphore organique oxydé, sous forme d'orthophosphate, précipitant en même temps que les arséniates, en perturbait le dosage.

Au début, pour séparer l'arsenic des phosphates, nous avons eu recours à la méthode classique, qui fait intervenir la formation de sulfure d'arsenic, à l'aide d'un courant suffisamment prolongé d'hydrogène sulfuré, la majeure partie de l'acidité étant saturée au moyen d'ammoniaque pur. Après évaporation au bain-marie de la solution ammoniacale, le résidu était repris par l'acide nitrique et transformé intégralement en acide arsénique, sur lequel la précipitation pouvait s'opérer sans cause d'erreur.

Nous avons vite préféré à cette méthode celle de PLUCHON, qui précipite intégralement l'arsenic, sous forme métalloïdique, au moyen du réactif de BOUGAULT, en opérant au bain d'huile à 120° - 125° . Mais, pour les cas particuliers qui nous furent soumis, nous dûmes apporter à la technique de PLUCHON, la modification suivante : la solution sulfurique de destruction, étendue de son volume d'eau distillée, est additionnée de NH_3 , en quantité suffisante pour obtenir une réaction alcaline, plus $1/4$ du volume de mixture magnésienne : 20 cm^3 , de $\text{PO}_4\text{Na}^2\text{H}$ au $1/10^{\text{e}}$: 2 cm^3 , ajoutée goutte à goutte. Laisser reposer, filtrer sur creuset en verre d'Iéna IG3, sous pression modérée. Après lavage avec de l'eau ammoniacale au $1/10^{\text{e}}$, le précipité mixte d'arséniate et de phosphate était recueilli, dissous dans de l'HCl pur, dilué au $1/5^{\text{e}}$, récolté dans une

fioule conique de 200 cm³, étendu à 25 cm³ avec de l'eau, additionné de 50 cm³ de réactif de BOUGAULT et porté au bain d'huile à 120°-125°, une demi-heure.

Cette opération réalisée, nous revenions à la technique de PLUCHON (Cf. *Bull. Soc. Pharmacie*, Bordeaux, 1932, t. II).

Tout l'arsenic ayant été amené, par ce traitement, à l'état pentavalent, il ne nous restait plus qu'à le doser, sous la forme de pyroarséniate de magnésium, selon la technique de LEVOL décrite par TEADWELL (Cf. *Chimie analytique*, t. II, p. 193). Un calcul simple nous ramenait alors à la quantité correspondante de tryparsamide cristallisée avec O,5H²O.

2. QUANTITÉS D'AS ALLANT DU 1/10^e AU 1/100^e DE MILLIGRAMME. — Nous avons fait appel au dosage diaphanométrique du métalloïde, au moyen du réactif de BOUGAULT, en observant, suivant les prescriptions de BOUGAULT et DENIGÈS, que la concentration maxima en SO⁴H² ne dépassât pas 20 o/o en volume et que la concentration maxima de l'As fût telle que ce métalloïde affectât, lors de sa précipitation une forme colloïdale (Cf. DENIGÈS. *C. R. Soc. Biologie*, 1905).

Manquant d'arséniate de sodium rigoureusement pur, nous avons fait une solution à 1 o/oo d'anhydride arsénieux pur POULENC, type Congrès, qui servit de solution mère.

Avec cette solution A, nous avons préparé, par dilution simple, au moyen de SO⁴H² au 1/5^e : une solution B par dilution de A au 1/10^e ; une solution C par dilution de B au 1/10^e ; de telle sorte que : 1 cm³ de A contient 0,001 d'As²O³ ; 1 cm³ de B contient 0,0001 d'As²O³ ; 1 cm³ de C contient 0,00001 d'As²O³.

A l'aide de ces solutions B et C, nous avons constitué une série d'étalons s'échelonnant de 1/100^e à 1/10^e de milligramme d'As²O³, la limite utilisable, nettement, étant comprise entre 2/100^e et 9/100^e d'As²O³. La gamme des étalons fut constituée avec 10 tubes, étiquetés de 1-10, recevant chacun les quantités suivantes des réactifs divers.

Tubes	1	2	3	4	5
Étalons : C.	1 cm ³	2 cm ³	3 cm ³	4 cm ³	5 cm ³
SO ⁴ H ² au 1/5 ^e .	4	3	2	1	0
BOUGAULT	5	5	5	5	5
Tubes	6	7	8	9	10
Étalons : B.	0,6 cm ³	0,7 cm ³	0,8 cm ³	0,9 cm ³	1 cm ³
SO ⁴ H ² au 1/5 ^e .	4,4	4,3	4,2	4,1	4
BOUGAULT	5	5	5	5	5

Le numéro de chaque tube correspond, en 1/100^e de milligramme, à la dose d'As²O³ qui y est contenue. Ces tubes furent portés au bain-marie bouillant, une demi-heure. Le liquide en expérience était dilué de telle façon qu'il contint le 1/5^e de son volume en SO⁴H² pur, puis traité de la même manière. Après immersion au bain-marie, une comparaison dia-

phénométrique était faite pour apprécier la dose d'As. Si l'As flocculait dans l'essai, la solution était alors étendue de SO^4H^2 au $1/5^e$, afin de rentrer dans les limites de la gamme. Un calcul simple permet alors de transformer l' As^2O^3 trouvé en tryparsamide cristallisé avec $0,5\text{H}^2\text{O}$.

S'il arrivait que les quantités d'As fussent inférieures au $1/100^e$ de milligramme d'arsenic exprimé en As^2O^3 , nous levions la difficulté à l'aide d'un procédé depuis longtemps connu et utilisé : nous englobions, au moyen d'un précipité auxiliaire, une quantité minime d'As répartie dans une grande masse de liquide. En l'espèce le précipité auxiliaire, englobant l'arsenic, est fourni par son proche parent chimique, le phosphore, qui existe dans le liquide de destruction : celui-ci est additionné de chlorure d'ammonium à 20 o/o : 20 cm^3 de phosphate disodique saturé ; 3 cm^3 de mixture magnésienne ; 15 cm^3 utilisée pour le dosage des phosphates, enfin d'une quantité d'ammoniaque pure : a) suffisante pour neutraliser, b) et supplémentaire, environ $1/3$ du volume final. On laisse reposer 24 heures. Filtration sur creuset en verre d'Iéna IG3, lavage à l'ammoniaque au $1/10^e$; après dissolution dans SO^4H^2 au $1/5^e$, on recueille quantitativement dans un tube, comme dans le dosage pondéral.

Dans le cas du sang, l'entraînement de l'arséniate ammoniacomagnésien a été opéré de manière à éliminer le fer, sous forme de tartrate ferrico-potassique. Pour cela, on ajoute 20 cm^3 d'acide tartrique au $1/10$, dans le liquide sulfurique de destruction et, de l'ammoniaque, en quantité suffisante, pour obtenir une réaction franchement alcaline, enfin 20 cm^3 de mixture magnésienne. Après agitation on ajoute, goutte à goutte, 1 ou 2 cm^3 de phosphate disodique au $1/10$; on filtre, comme plus haut, et on lave avec une solution composée de :

Mixture magnésienne.	25 cm^3
Acide tartrique au $1/10^e$.	25 cm^3
Eau q. s. p.	100 cm^3

Après dissolution dans un volume connu de SO^4H^2 au $1/5$, on fait une comparaison diaphanométrique au Bougault.

3. POUR LES QUANTITÉS D'AS. INFÉRIEURES AU $1/100$ DE MG., nous avons appliqué le procédé de CRIBIER, qui utilise l'action de l'hydrogène arsénié sur un papier imprégné de Bichlorure de Mercure.

On mesure la longueur de la tache brune, produite après fixation par l'I. K. à 10 o/o, avec la longueur des taches, donnée par une gamme étalon (Cf. CRIBIER *Thèse de Pharmacie*, Paris, 1921). Toutefois, étant donné les conditions d'acidité du milieu, nous avons dû, avec l'urine, faire la précipitation par entraînement au moyen du phosphate ammoniacomagnésien, redissoudre le précipité et suivre alors la technique de CRIBIER.

Pour le sang, nous avons toujours éliminé le fer.

L'arsenic, dosé suivant la gamme, a été ensuite transformé, par le calcul, en tryparsamide cristallisé avec $0,5H^2O$.

Résultats.

A. — RECHERCHES PORTANT SUR LES URINES

Réaction des urines : Acide. Les analyses ont été faites sur des échantillons recueillis, pendant les premières 24 h. : 1° 3 h. après l'injection ; 2° puis, de 3 h. en 3 h., durant les 12 premières h. ; 3° enfin, sur l'ensemble des urines de la 12^e à la 24^e h.

De 24 à 48 h. : échantillons des urines émises : 1° de 24 à 36 h. ; 2° de 36 à 48 h. Passé ce délai, les analyses ont porté sur le total des urines émises au cours des 24 h.

La dose la plus faible de tryparsamide prescrite fut de 0 g. 250.

RÉPARTITION DE L'ÉLIMINATION

Horaire	Volume des urines	Tryparsamide éliminée	Concentration
3 h. après.	470 cm ³	0 g. 0749	0 g. 1593
6 »	208 »	0 g. 0266	0 g. 1265
9 »	300 »	0 g. 0098	0 g. 328
12 »	750 »	0 g. 001	0 g. 0012
12 à 24 h.	1800 »	0 g. 0021	0 g. 0011

Elimination totale au cours des premières 24 h. : 0 g. 112. Il demeure : 0 g. 138. Soit un coefficient d'utilisation de $\frac{0,138}{0,250} = 0,552$.

L'élimination se poursuit les jours suivants, marquant une élévation au 6^e jour 0 mg. 47 pour retomber à 0 mg. 10, le 7^e jour et se continuer sous traces non dosables.

1° *Dose de tryparsamide injectée* : 0 g. 500. — Les diagrammes représentent l'élimination, par heures et par jour (en abscisse, sont portés les heures et les jours ; en ordonnée, les quantités de tryparsamide exprimées en milligramme).

Au bout des 3 premières heures, le volume des urines émises, 300 cm³, contient 0,070 mg. de tryparsamide, soit une concentration de 0 g. 2333. Au terme des premières 24 h., 0 g. 117 mg. de tryparsamide ont été éliminés, dans un volume total de 1.795 cm³ ; l'organisme en conserve : 0 g. 383 mg. dont l'élimination se poursuit, chaque jour, en valeurs infinitésimales, régulièrement décroissantes, marquant une légère élévation au 5^e-6^e jour (fait qui paraît

être constant); pour aboutir au 8^e jour à des traces non dosables.
Avec 0 g. 500 mg. le coefficient d'utilisation est de :

$$\frac{0,383}{0,500} = 0,766.$$

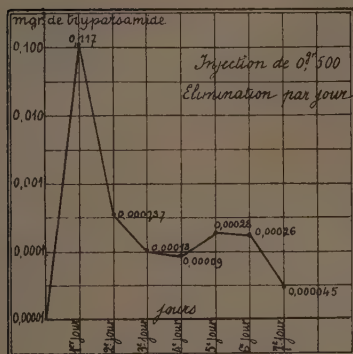


Fig. A.

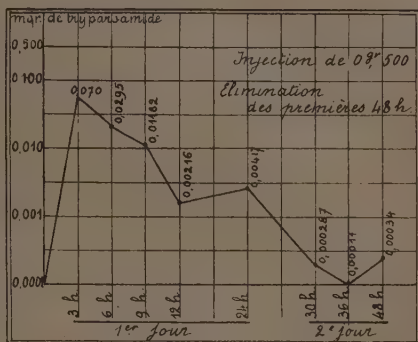


Fig. B.

2^o Dose de trypan blue injectée : 1 g. — Le diagramme représente l'élimination par heures.

Urines émises au bout des 6 premières h. : 200 cm³, renfermant 0 g. 238 mg. 7 de trypan blue, soit une concentration = 1 g. 1935.

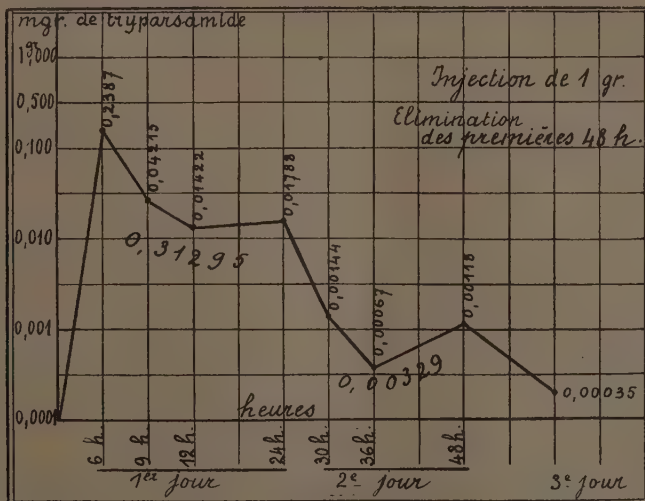


Fig. C.

Au bout des premières 24 h., élimination de 0 g. 312 mg. 9 de tryparsamide, dans un volume total d'urines de 2.540 cm³.

Quantité retenue = 0 g. 687 mg. 05. Coefficient d'utilisation = 0,687.

Tryparsamide éliminée au bout des premières 24 h. : 1 g. 285, dans un volume total d'urines de 2.285 cm³.

Quantité retenue = 0,265 mg. Coefficient d'utilisation :

$$\frac{0,265}{1,500} = 0,176.$$

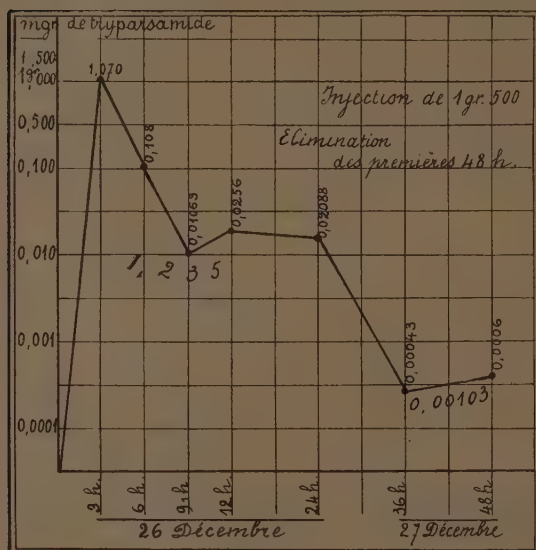


Fig. D.

3^e Dose de tryparsamide injectée : 2 g. — Le diagramme reproduit l'élimination par heures.

Emission au bout des 6 premières h. de 600 cm³ d'urines, ayant entraîné : 1 g. 430 mg. de tryparsamide, soit une concentration = 2 g. 3832.

Au bout des premières 24 h., dans une émission totale d'urines = 2.090 cm³, il est éliminé : 1 g. 643 mg. de tryparsamide. Quantité retenue = 0,357 mg. Coefficient d'utilisation :

$$\frac{0,357}{2,000} = 0,178.$$

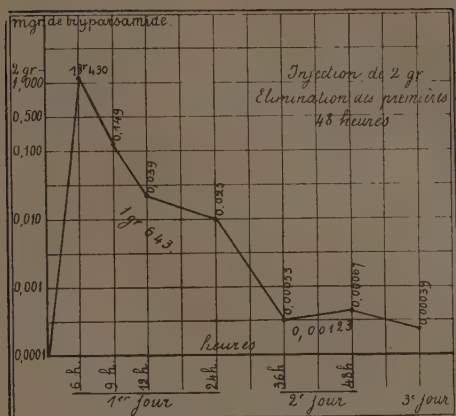


Fig. E.

4^o Dose de tryparsamide injectée : 2 g. 500. — Le diagramme exprime l'élimination par heures.

Volume des urines émises au bout des 3 premières h. : 355 cm³, contenant 1 g. 580 mg. de tryparsamide, soit une concentration = 4 g. 449.

Élimination au bout des premières 24 h. = 2 g. 093 mg. ; de tryparsamide, dans un volume total d'urines = 2.150 cm³. Quantité retenue = 0,407 mg. Coefficient d'utilisation = $\frac{0,407}{2,500} = 0,162$.

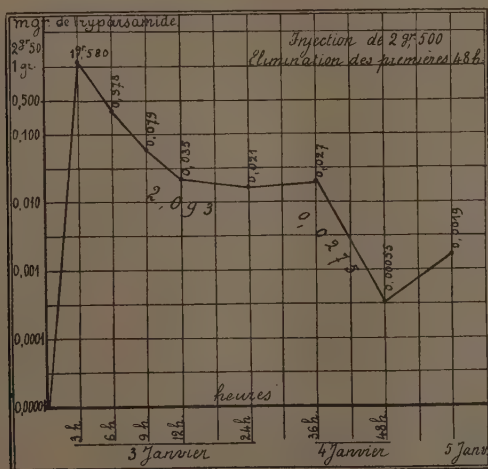


Fig. F.

5° *Dose de tryparsamide injectée* : 3 g. — Les diagrammes reproduisent l'élimination par heures et par jour.

Volume des urines émises au bout des 3 premières h. : 430 cm³, ayant entraîné : 1 g. 790 de tryparsamide, soit une concentration = 4 g. 1617.

Au bout des premières 24 h., dans un volume total d'urines de 1.368 cm³, il est éliminé : 2 g. 438 mg. de tryparsamide. Il reste dans l'organisme : 0,562 mg. Coefficient d'utilisation = $\frac{0,562}{3,000} = 0,187$.

Nous avons arrêté cette étude aux doses prescrites de 3 g. que, pratiquement et à de rares exceptions près, nous n'avons jamais atteintes, dans le traitement prolongé de la méningo-encéphalite trypanosomique. Avec LEDENTU, VAUCEL, BOISSEAU, qui collaborèrent avec nous à fixer cette posologie de la tryparsamide, nous avons été amenés à ne pas dépasser, par injection intraveineuse, la dose hebdomadaire de 2 g., encouragés par les modifications heureuses des symptômes et des réactions biologiques du liquide céphalo-rachidien observées. D'autre part, cette dose de tryparsamide nous mettait à l'abri aussi bien des accidents oculaires que des manifestations, plus ou moins accusées, de la polynévrite arsenicale.

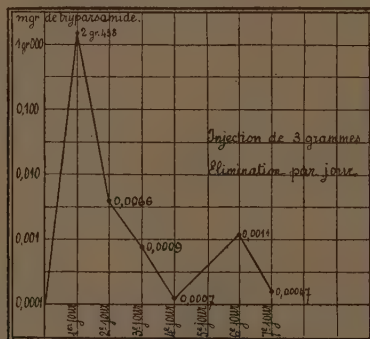


Fig. G.

B. — RECHERCHES PORTANT SUR LA DURÉE APPARENTE DE LA TRYPARSAMIDE DANS LE SANG.

Dose injectée : 1 g. Prélèvement à la veine d'une quantité de sang, comprise entre 45 et 60 cm³.

	Horaire	Quantité de tryparsamide o/oo
Prélèvement	30 m. après l'injection.	0 g. 02143
»	1 h.	0 g. 01494
»	2 »	0 g. 00972
»	3 »	0 g. 00705
»	5 »	0 g. 00262
»	7 »	0 g. 00240
»	24 »	0 g. 00074
»	48 »	0 g. 0007
»	72 »	0 g. 0004

Nous n'avons pas poursuivi les dosages au delà de 72 h.; il est difficile, en effet, de garantir l'exactitude de valeurs aussi minimes de tryparsamide, mais il n'en est pas moins permis de conclure qu'elle circule dans le courant sanguin, sous une remarquable constante, à partir de la deuxième heure qui suit l'injection. A ce moment, le gramme de tryparsamide injecté, par voie intraveineuse, n'est plus représenté dans le sang circulant que par une quantité totale = 0,048 mg. 6 (en se basant sur un volume de 5 l. de sang); la différence : 0,951 mg. 4, ont quitté le courant sanguin.

Des travaux de FORDYCE, ISADORE ROSEN et MYERS (1) qui ont recherché sur plus de 300 rats la présence de la tryparsamide dans divers organes, il résulte qu'après une injection de tryparsamide il est possible de déceler l'arsenic entre autres, dans le foie, la rate, les reins, le cerveau et le sang. Pour autant que leurs constatations puissent être rapportées du rat à l'homme, c'est au niveau des reins que l'on retrouve les quantités les plus fortes d'arsenic, dans le laps de temps très court — 0 à 20 m. — qui sépare l'injection du sacrifice de l'animal. Si le même fait se produit chez le trypanosomé — et l'on est autorisé à y songer, eu égard à l'élimination massive du produit, par la voie rénale, dans les 3 h. qui suivent l'injection — ne faut-il pas craindre que cette brusque accumulation de la tryparsamide, puis son élimination, d'autant plus élevées l'une et l'autre, que les doses prescrites sont plus fortes, ne puissent irriter le parenchyme rénal et, à la longue, l'altérer ?

Des autres organes étudiés, la rate se prête à une accumulation importante d'arsenic, dans les 30 premières minutes, beaucoup plus que le foie, puis le *quantum* évalué baisse très notablement, pour rebondir 2, 4 et 24 h. après l'injection. Le cerveau, relative-

(1) JOHN A. FORDYCE, ISADORE ROSEN, C. N. MYERS. Localisation et sort du salvarsan, néo-salvarsan, silver-salvarsan-tryparsamide, dans les viscères, après injection intraveineuse chez les rats. *Am. Journal of syphilis*, 1924, vol. VIII, p. 377.

ment aux autres organes, ne retient que des proportions très faibles d'arsenic.

En résumé, quelles que soient les doses de tryparsamide administrées par la voie intraveineuse, de 0 g. 250 mgr. à 3 g., il se produit, dans les trois premières h., par la voie rénale, une élimination brusquée du composé. Ce rejet massif effectué, les mictions successives, au cours des premières 24 h., n'entraînent plus que des quantités faibles et progressivement décroissantes. Cette expulsion de la tryparsamide, 3 h. après son introduction dans l'organisme, est d'autant plus forte que la dose en est plus élevée. Au delà des premières 24 h., l'étude des diagrammes montre que l'élimination se poursuit régulièrement de jour en jour, par quantités de plus en plus minimales. Au 5^e et au 6^e jours, une légère ascension de la courbe d'élimination interrompt la régularité de sa descente, qui reprend au 7^e jour, et ne s'élève plus. Cette durée d'élimination apparente, par les urines, s'échelonne sur 14 jours environ, mais dès le 10^e jour, le *quantum* éliminé n'est plus qu'à l'état de traces non dosables.

Pour une même dose injectée, le rythme de l'élimination, sous réserve de l'intégrité du système cardio-rénal, revêt une allure constante, si bien que, passé les premières 24 h., il s'établit un coefficient d'utilisation, exprimé par le quotient de la quantité de tryparsamide retenue par la dose prescrite. Contrairement à ce que l'on pouvait penser, les doses élevées n'ont qu'un faible coefficient d'utilisation.

L'importance de la diurèse, dans les 3 premières h., accélère l'élimination du composé. Après une injection de 3 g. de tryparsamide, un malade émet, dans les 3 premières h., 23 cm³ d'urines contenant 0,149 mg. 45 de tryparsamide, sous une concentration = 6 g. 486. La semaine suivante, avant l'administration d'une dose égale, le même malade boit en trois prises, séparées par des intervalles d'une demi-heure, 500 cm³ d'eau pure : le volume d'urines récolté, 3 h. après l'injection, atteint 425 cm³, contenant 2 g. 286 de tryparsamide, sous une concentration = 5 g. 377.

C'est donc une quantité de tryparsamide relativement très restreinte qui est retenue et utilisée par l'organisme, sous forme de combinaisons efficaces, qui en font cet agent thérapeutique précieux du traitement de la trypanosomiase nerveuse.

De l'efficacité de la tryparsamide chez les trypanosomés en deuxième période,

A. LORE et J. MARTY.

L'un de nous en service depuis plusieurs années dans des régions où sévit la trypanosomiase a remarqué que l'action de la tryparsamide était excessivement variable : alors que des déments recouvrent rapidement la raison, que des grabataires reviennent progressivement à la santé, parfois après quelques injections seulement, d'autres malades n'en retirent aucun bienfait ; certains mêmes, qui arrivent avec un assez bon état général, ayant une atteinte minime du liquide céphalo-rachidien, déclinent peu à peu malgré le traitement, amaigrissent et meurent cachectiques sans qu'à aucun moment la ponction lombaire puisse montrer une amélioration quelconque ; bien plus, chez quelques-uns, les lésions nerveuses évoluent comme si aucun traitement n'était suivi.

La cause de ces échecs semble résider dans une résistance acquise à la tryparsamide. Car les malades qui retirent un rapide profit du traitement sont des malades neufs n'ayant jamais reçu de tryparsamide. Ceux qui ne sont pas améliorés sont des trypanosomés qui ont reçu de la tryparsamide alors qu'ils n'étaient qu'en première période.

Au Cameroun, depuis plusieurs années, le traitement de brousse de la maladie du sommeil est à base de tryparsamide ; les nouveaux malades recevant atoxyl-tryparsamide, les anciens tryparsamide seulement. La grande majorité des indigènes ainsi traités est en première période. Lorsque ces malades évoluent en deuxième période, la tryparsamide n'a plus aucune action sur leurs lésions. Malgré les séries répétées d'injections, malgré les associations médicamenteuses diverses, malgré les traitements par les autres trypanocides l'évolution est presque toujours fatale.

Nous avons eu à Ayos un grand nombre d'observations à notre disposition. Leur étude nous a montré que les malades passés en deuxième période après avoir reçu de la tryparsamide fournissent le plus gros pourcentage de décès. Au contraire, les malades à la période d'atteinte nerveuse qui n'ont jamais été traités, ou qui n'ont reçu que des traitements ne comportant pas de tryparsamide, guérissent la plupart du temps ; remarquons que, même s'ils ont reçu d'autres arsenicaux, atoxyl, novar, par exemple, ils réagissent très bien à la tryparsamide ; leur résistance à ce produit ne semble se créer que lorsqu'ils en recoivent avant qu'apparaissent des trou-

bles du liquide céphalo-rachidien ; les autres sels d'arsenic n'ayant pas le pouvoir de la produire.

En prenant les observations les plus récentes, nous avons réuni 100 fiches de malades morts de trypanosomiase, et 100 fiches de malades sortis guéris : sur 100 morts, 80 avaient reçu de la tryparsamide avant que l'on constate leur passage en seconde période, 16 seulement étaient neufs à ce produit ; pour les 4 autres nous n'avons eu aucun renseignement sur le traitement antérieur. Sur 100 guéris, 84 étaient neufs au produit, 16 seulement avaient reçu de la tryparsamide avant d'avoir une ponction lombaire décelant des lésions nerveuses.

Voici quelques observations de ces deux catégories de malades. Abréviations employées : S. G. = suc ganglionnaire ; S. R. = sang préparé selon la méthode de Ross ; L. C. R. = liquide céphalo-rachidien ; T. + = présence de trypanosomes ; o T = pas de trypanosomes ; P. L. = ponction lombaire.

La tryparsamide est injectée par série de 12 injections hebdomadaires, à la dose de 4 à 5 cg. par kilogramme.

A. — MALADES AYANT REÇU DE LA TRYPARSAMIDE AVANT LA DEUXIÈME PÉRIODE

OBSERVATION I. — APOURE ANGO, jeune femme de 18 ans recensée en 1926, traitement inconnu jusqu'en juin 1931. Elle reçoit alors 4 g. 60 de moranyl et 24 g. de tryparsamide. Elle vient à Ayos le 4-12-31 ; à ce moment S. R., o T ; P. L. : Elém. : 55 ; Alb. 0,40 ; T +.

Du 11-12-31 au 27-2-32 reçoit 22 gr 20 de tryparsamide ; nouvelle P. L. : Elém. : 74 ; Alb. : 0,45 ; T +.

Nouvelle série de 21 g. 40 de tryparsamide, et le 31-5-32 elle présente ; S. R. : T + ; P. L. : Elém. : 74 ; Alb. : 0,40 ; T +.

Du 25-8-32 au 11-11-32, tryparsamide : 20 g. 10 ; urotropine : 3 g. 50 ; émétique 0 g. 24. Le 12-11-32 ; P. L. : Elém. : 243 ; Alb. : 0,48 ; T +.

On fait un nouveau traitement avec tryparsamide plus urotropine, mais après 7 injections la malade meurt.

OBSERVATION II. — EBA NTSAMA, garçonnet de 6 ans, recensé en 1928, reçoit atoxyl 3 g. 50. En 1930, atoxyl 0 g. 40 ; tryparsamide : 11 g. En 1931, atoxyl : 0 g. 55 ; tryparsamide : 16 g. 80. Le 12-2-32, vient à Ayos ; P. L. : Elém. : 36,8 ; Alb. : 0,30 ; o T.

Reçoit du 12-2 au 29-4-32, tryparsamide : 17 g. 80 ; P. L. : Elém. : 23,2 ; Alb. : 0,30 ; o T.

Du 7-5 au 25-7-32, tryparsamide : 16 gr. 80, le 2-8-32 ; P. L. : Elém. : 56,8 ; Alb. : 0,40 ; o T.

Un nouveau traitement avec tryparsamide plus urotropine est institué, le malade s'évade en cours de traitement, mais revient le 6-1-32 ; P. L. à ce moment : Elém. : 66,4 ; Alb. : 0,45 ; T +. Mort le 10-1-33.

OBSERVATION III. — MBARGA EDOA, jeune homme de 13 ans, recensé le 7-6-30. En 1930, reçoit tryparsamide : 23 g. 20. En 1931, reçoit trypar-

samide : 16 g. 00. En 1932, Néo 2 ; tryparsamide : 16 g. 80. Vient à Ayos le 24-6-32 ; P. L. : Elém. : 242,6 ; Alb. : 0,56 ; T +.

Du 25-6 au 10-9-32, reçoit un traitement comprenant tryparsamide : 18 g. 50 ; émétique : 0 g. 67, au cours duquel il fait 3 rechutes sanguines ; le 17-9-32 ; S. R. o T. P. L. : Elém. : 221 ; Alb. : 0,60 ; T +.

Du 19-9-32 au 22-12-32 reçoit Bayer 1 g. 50 ; tryparsamide : 17 g. 50. Le 29-12-32 ; P. L. : Elém. : 216,8 ; Alb. : 0,60 ; o T. Nouveau traitement avec tryparsamide plus urotropine ; après 3 injections, le malade meurt.

OBSERVATION IV. — BISSO MEDJOTTO, femme de 38 ans, recensée à Ayos le 16-9-24 ; pas de P. L., S. R. : T + du 16-9-24 au 22-7-30, reçoit atoxyl : 11 g. 70 ; tryparsamide : 20 g. 60. En 1931 reçoit BAYER : 1 g. 80 ; tryparsamide : 22 g. 80. Le 6-1-32 ; P. L. : Elém. : 56 ; Alb. : 0,36 ; o T.

Reçoit tryparsamide 4 g. S'évade, elle revient le 17-6-32 ; S. R., T + P. L. : Elém. : 52 ; Alb. : 0,35 ; T +.

Reçoit BAYER : 2 g. 05 ; tryparsamide : 20 g. 40. Le 27-9-32 ; P. L. : Elém. : 14,6 ; Alb. : 0,35 ; o T.

Reçoit ensuite tryparsamide : 20 g. 10 ; P. L. : Elém. 14 ; Alb. : 0,27 ; o T.

Au cours d'un nouveau traitement, la malade meurt.

OBSERVATION V. — BIOUSÉLÉ MADOME, femme de 27 ans, recensée le 1^{er}-2-26 ; S. G. : T + ; reçoit en 1926 atoxyl : 6 g. En 1927 atoxyl : 6 g. En 1928 tryparsamide : 14 gr. En 1930 atoxyl : 0 gr. 55 ; tryparsamide : 22 g. En 1931, atoxyl : 0 g. 90 ; tryparsamide : 24 g. 20.

Le 5-9-32 vient à Ayos ; S. R., o T : P. L. : Elém. : 134,40 ; Alb. : 0,40 ; T +.

On lui fait tryparsamide : 23 g. 50, mais s'amaigrit de 54 à 36 kg. ; devient grabataire, meurt.

OBSERVATION VI. — GNIMBÉ ZOGMADJO, homme de 28 ans, recensé à Ayos le 30-3-23. Reçoit en 1923 atoxyl : 1 g. En 1924, atoxyl : 2 gr. En 1925, atoxyl : 1 g. En 1927-28, atoxyl : 7 g. En 1930, tryparsamide : 24 g. 20. En 1931, atoxyl : 0 g. 90 ; tryparsamide : 31 g. 90. Au début de 1932, tryparsamide : 25 g. Le 19-4-32 vient à Ayos ; S. R., T + P. L. : Elém. : 196 ; Alb. : 0,50 ; T +.

Reçoit BAYER : 3 g. ; tryparsamide : 28 g. Le 9-8-32, P. L. : Elém. : 135 ; Alb. : 0,50 ; T +.

Du 10-8-32 au 20-8-32, émétique : 1 g. ; puis BAYER : 3 gr. ; tryparsamide : 15 g. 90. Est à ce moment en mauvais état, fait 1 rechute sanguine, reçoit émétique : 0 g. 35, qui le négative ; on refait tryparsamide ; mais il meurt.

OBSERVATION VII. — MVOM KOBO, homme de 25 ans, recensé à Ayos le 24-2-25 ; S. G., T + de 1925 à 1927, atoxyl : 20 g. En 1930, atoxyl : 2 g. ; tryparsamide : 27 g. En 1931, atoxyl : 1 g. ; tryparsamide : 34 g. Début 1932, tryparsamide : 19 g. 60. Le 28-10-32 ; 1^{re} P. L. : Elém. : 134,2 ; Alb. : 0,64 ; T +.

On commence un nouveau traitement. Mort après 7 injections.

OBSERVATION VIII. — YAS BILOUNGA, homme de 22 ans, recensé à Ayos le 9-6-25. S. G., T +. De 1925 à 1930, reçoit atoxyl : 13 g. 45 ;

tryparsamide : 46 g. En 1931, atoxyl : 0 g. 85; tryparsamide : 23 g. 40; 1^{re} P. L. le 26-4-32 : Elém. : 67; Alb. : 0,56; T +.

Du 26-4-32 au 12-7-32; tryparsamide : 27 g. 20; P. L. : Elém. : 147; Alb. : 0,56; T +.

Nouveau traitement du 20-7 au 5-10-32; tryparsamide : 28 g. 20; urotropine : 6 g.; P. L. : Elém. : 36; Alb. : 0,45; 0 T.

Nouveau traitement avec tryparsamide plus urotropine, malgré cela il s'amaigrit et devient en très mauvais état. Mort à la 11^e injection :

OBSERVATION IX. — MBADOBÉ MANDJO, fillette de 8 ans, recensée le 7-1-26, reçoit de cette date au 1^{er}-2-32; atoxyl : 5 g.; tryparsamide : 63 g. 40; le 1^{er}-2-32; S. R., T +; P. L. : Elém. : 153; Alb. : 0,56; T +.

Traitement du 1^{er}-2-32 au 21-4-32, BAYER : 2 g.; tryparsamide : 23 g. 20; le 29-4-32; P. L. : Elém. : 15,6; Alb. : 0,30; 0 T.

Nouveau traitement du 23 7-32 au 8-10-32; tryparsamide : 22 g. 80; P. L. le 15-10-32; Elém. : 132,2; Alb. : 0,43; T +.

Un nouveau traitement avec tryparsamide plus urotropine est institué, la malade meurt à la 10^e injection avec diminution de 10 kg.

OBSERVATION X. — OLINGA SOGLA, homme de 35 ans, recensé à Ayos le 10-6-25. De 1925 à début 1932, reçoit atoxyl : 18 g.; tryparsamide : 35 gr. Le 5-2-32, 1^{re} P. L. : Elém. : 124; Alb. : 0,72; T +.

Du 9-2-32 au 26-4-32, tryparsamide : 35 g. 40; P. L. : Elém. : 52,6; Alb. : 0,50; 0 T.

Du 27-7 au 20-10-32, tryparsamide : 23 g. 70 et urotropine : 6 g.; P. L. le 27-10-32 : Elém. : 103,6; Alb. : 0,50; T +.

On institue un nouveau traitement, au cours duquel le malade fait des troubles oculaires et meurt.

B. — MALADES N'AYANT PAS REÇU DE TRYPARSAMIDE AVANT D'ÊTRE EN 2^e PÉRIODE

OBSERVATION I. — AFANA ZOA, fillette de 7 ans, vient à Ayos le 8-3-32. Elle présente S. G., T +; S. R., 0 T.; P. L. : Elém. : 94; Alb. : 0,40; T +.

Reçoit BAYER : 1 g. 30; tryparsamide : 13 g. 20; nouvel examen S. G. et S. R., 0 T.; P. L. : Elém. : 5; Alb. : 0,25; 0 T.

Nouveau traitement, tryparsamide : 13 g. 20; à la suite duquel S. R. et S. G., 0 T.; P. L. : Elém. : 2,2; Alb. : 0,16; 0 T.

OBSERVATION II. — MBANA NANGA, jeune fille de 12 ans, vient à Ayos le 9-10-31.

Elle présente S. G., 0 T.; S. R., T +; P. L. : Elém. : 91; Alb. : 0,56; T +.

Elle reçoit atoxyl : 1 g. 85; néo : 0,80; tryparsamide : 10 g. 20. A ce moment l'examen montre S. G. et S. R., 0 T., P. L. : Elém. : 2,4; Alb. : 0,20; 0 T.

OBSERVATION III. — BKOA ABADA, femme de 12 ans, vient à Ayos, le 29-11-32.

Elle présente S. G., T +; S. R., T +; P. L. : Elém. : 170; Alb. : 0,60; T +.

Elle reçoit un traitement comprenant BAYER : 1 g. 90; tryparsamide :

20 g. 90 à la suite duquel on trouve S. G. et S. R., o T.; P. L. : Elém. : 4; Alb. : 0,22; o T.

OBSERVATION IV. — **NGA WONG AKAMBA**, femme de 21 ans, vient à Ayos le 26-9-32.

Elle présente S. G., T +; S. R., o T.; P. L. : Elém. : 101; Alb. : 0,40; T +.

Elle reçoit, BAYER : 2 g. 40 et tryparsamide : 27 g. 40 et l'examen montre S. G. et S. R., o T.; P. L. : Elém. : 3,2; Alb. : 0,20; o T.

OBSERVATION V. — **BELINGA NGALLI**, homme de 20 ans, vient à Ayos le 18-7-32.

Il présente S. G., T +; S. R., o T.; P. L. : Elém. : 148,8; Alb. : 0,56; T +.

Traitement, BAYER : 3 g. et tryparsamide : 31 g. 80. Nouvel examen S. R., S. G., o T.; P. L. : Elém. : 4; Alb. : 0,25; o T.

Nouveau traitement, tryparsamide : 32 g. 60 : à la fin duquel on trouve S. G. et S. R., o T.; P. L. : Elém. : 2,8; Alb. : 0,22; o T.

OBSERVATION VI. — **ETEMÉ MINKOULOU**, homme de 25 ans, vient à Ayos le 22-11-32.

Il est cliniquement sommeilleux; S. G. et S. R., o T.; P. L. : Elém. : 102,2; Alb. : 0,36; o T.

Il reçoit, tryparsamide : 20 g. 60. Les troubles qu'il présentait disparaissent. La ponction lombaire donne : Elém. : 1,2; Alb. : 0,20; o T.

OBSERVATION VII. — **HGONO EVINA**, femme de 38 ans, vient à Ayos le 7-7-32.

Elle est cliniquement sommeilleuse, sans trypanosomes dans le sang ou dans le suc ganglionnaire. La P. L. donne : Elém. : 317,8; Alb. : 0,45; o T.

Elle reçoit 17 g. 40 de tryparsamide et l'examen montre S. G. et S. R., o T.; P. L. : Elém. : 6; Alb. : 0,30; o T.

Nouveau traitement, tryparsamide : 16 g. 20, au cours duquel la malade fait une pneumonie dont elle guérit, et à la fin de la série d'injections elle présente dans le L. C. R. : Elém. : 4,8; Alb. : 0,20; o T.

OBSERVATION VIII. — **EKANGA ESSOLA**, femme de 38 ans, vient à Ayos le 2-11-31.

Elle présente, S. G., T +; S. R., T +; P. L. : Elém. : 153; Alb. : 0,45; T +.

Elle a un traitement composé de atoxyl : 2 g. 90; néo : 0,90; tryparsamide : 15 g. 10 à la suite duquel l'examen donne S. G. et S. R., o T.; P. L. : Elém. : 2,4; Alb. : 0,22; o T.

OBSERVATION IX. — **EKÉME MBANE**, femme de 11 ans, vient à Ayos le 1^{er}-12-32.

Elle présente S. G., T +; S. R., o T.; P. L. : Elém. : 200; Alb. : 0,44; o T.

Le traitement comprend, BAYER : 2 g. 15; tryparsamide : 22 g. 60 et la malade présente à sa sortie S. G. et S. R., o T.; P. L. : Elém. : 1,6; Alb. : 0,22; o T.

OBSERVATION X. — **ABINA BEKOA**, homme de 30 ans, vient à Ayos le 20-10-31. C'est un paraplégique qui présente, S. R., o T.; S. G., o T.; et dont la P. L. donne : Elém. : 280; Alb. : 0,83; o T.

Il reçoit un premier traitement de 25 g. 30 de tryparsamide, au milieu duquel il recommence à marcher; en fin de traitement la P. L. donne : Elém. : 2,4; Alb. : 0,20; 0 T.

On fait une nouvelle série d'injections de 28 g. 20 de tryparsamide; au cours de ce traitement, il fait des accidents cutanés de syphilis secondaire, pour lesquels il reçoit des injections de quinby; une nouvelle P. L. donne à ce moment : Elém. : 1; Alb. : 0,20; 0 T.

Le malade reste encore deux mois à l'hôpital pendant lesquels il reçoit du néo pour sa syphilis. Avant sa sortie, un autre P. L. donne : Elém. : 1,4; Alb. : 0,20; 0 T.

Ces deux groupes d'observations, que nous n'avons pas voulu allonger démesurément, montrent bien l'efficacité très différente de la tryparsamide suivant les cas. Pour les malades du deuxième groupe, une ou deux séries d'injections ramènent un liquide céphalo-rachidien souvent très altéré à la normale. Pour ceux du premier groupe, de nombreuses séries n'empêchent pas l'aggravation des lésions; parfois le nombre d'éléments du liquide céphalo-rachidien diminue mais l'albumine reste à un taux élevé, augmente même et les trypanosomés meurent malgré un traitement intensif. Ces derniers sont ceux qui avaient reçu en brousse de la tryparsamide *sans le contrôle de la ponction lombaire*. Il y a lieu de penser qu'alors ils étaient encore en première période; sinon le traitement devrait avoir agi comme pour ceux du deuxième groupe; ou bien passés en deuxième période avant les premières injections qui remontent pour la plupart à plusieurs années avant la ponction lombaire, on peut croire qu'ils auraient des lésions bien plus graves, si toutefois ils avaient encore vécu.

Ces faits semblent bien prouver qu'il faut consacrer la tryparsamide uniquement pour les malades en deuxième période.

C'est le seul produit capable de lutter contre les lésions nerveuses. Comme il ne paraît pas avoir de pouvoir préventif contre l'évolution nerveuse et qu'appliqué à des malades en première période il leur enlève la possibilité d'être traités efficacement si des troubles du liquide céphalo-rachidien apparaissent, on ne devrait donc jamais l'employer sans ponction lombaire préalable. Cette dernière, n'étant pas possible à faire à tous les anciens malades par les équipes de prospection, doit être réservée à tous les nouveaux malades et aux anciens ayant des trypanosomes dans le sang ou le suc ganglionnaire. Quant aux anciens malades négatifs, qui sont trop nombreux actuellement pour recevoir une ponction lombaire, mieux vaudrait ne leur faire aucun traitement que de leur injecter un produit qui coûte cher, dont ils n'ont pour la plupart aucun besoin, et qui presque fatalement les condamne à mort si un jour ils entrent en deuxième période. Ceci n'excluerait nullement du traitement les

trypanosomés qui ont déjà des lésions nerveuses, car les indigènes viennent facilement demander une ponction lombaire et un traitement lorsqu'ils ont des troubles qui se rapportent à la trypanosomiase.

Observations sur la biologie de l'*Anopheles plumbeus*.

II. — L'*Asthénobiose* cyclique hivernale (I). 215

Par E. ROUBAUD et J. COLAS-BELCOUR.

L'un des phénomènes les plus curieux qui caractérise la biologie de l'*A. plumbeus*, réside dans le comportement d'hiver de cet Anophèle. C'est à l'état de larves que très généralement s'effectue le passage de l'hiver pour ce moustique et nous avons montré dans une étude précédente (1932) comment ses larves sont particulièrement adaptées à la résistance à l'asphyxie, en eau profonde et au froid.

La plupart des auteurs qui nous ont précédés ont parfaitement noté que l'*A. plumbeus* peut passer l'hiver à l'état de larves. Mais il ne semble pas que l'arrêt de l'évolution ou diapause, affectant pendant cette période le développement du moustique, ait particulièrement frappé l'attention des observateurs comme pouvant être rapporté à un autre facteur qu'à l'influence banale du froid hivernal.

Nous avons déjà brièvement indiqué (1926) que notre conception s'écarte complètement de l'opinion courante à ce point de vue et les recherches que nous avons poursuivies sur l'hibernation larvaire du *plumbeus* nous ont amenés à affirmer : 1° que la torpeur hivernale larvaire n'est pas liée initialement au froid dans cette espèce, mais dépend d'un processus spontané d'inertie métabolique, dénommé par l'un de nous diapause vraie ou *asthénobiose* ; 2° que ce processus spontané survient cycliquement et obligatoirement dans la vie de l'espèce, suivant le processus que l'un de nous a fait connaître pour certains types d'organismes affectés de diapauses indépendantes des actions ralentissantes extérieures.

Les critiques mal fondées qui ont été émises par des observateurs insuffisamment au courant de ces curieux phénomènes d'inertie cyclique (G. COUSIN) nous ont incités à reprendre très étroitement l'étude d'*A. plumbeus* qui en offre un excellent exemple. Nos expériences, répétées d'années en années depuis 1926, nous permettent de poser aujourd'hui la question sur une base rigoureuse.

(1) Voir partie I. Ce *Bulletin*, t. XXV, juillet 1932.

A. — RÉSISTANCE DES LARVES AU GEL

Bien des auteurs ont constaté la présence des larves du moustique en automne et en hiver dans les collections d'eaux des trous d'arbres. GALLI-VALERIO (1913) les observe dans des cavités recouvertes d'une couche de glace; BLACKLOCK et CARTER (1926), contrairement à ECKSTEIN (1918), sont convaincus que ces larves passent l'hiver dans ces conditions. Ils montrent leur résistance à l'action de la glace : la prise en bloc solide de l'eau renfermant des larves de *plumbeus*, pendant 30 minutes, n'empêche pas la survie des larves.

A. Soukhoun, I. E. ZOLOTNIKOVA (1929) note la présence de larves de *plumbeus* en état de vie, sous couche de glace, dans les trous d'arbres.

Nous avons pu constater, au cours de l'hiver 1932-1933, que des larves de *plumbeus* ont pu supporter normalement une période de gel de cinq jours, à -6°C. , -8°C. , dans des conserves cylindriques soumises à l'action de la température du dehors. Dans deux de ces récipients, le liquide de développement (macération d'écorces de chêne) a été pris en bloc de glace pendant au moins deux jours; pendant le total des cinq jours de gel, la plupart du temps les larves restèrent immobilisées au contact d'un bloc dense de glace de surface. Au dégel elles ont repris progressivement leur vitalité, sans mortalité appréciable.

B. — RÉSISTANCE A LA SUBMERSION

Nous avons montré précédemment (1932) que les larves hivernantes de *plumbeus* sont aptes à résister pendant une soixantaine de jours à la submersion sous une couche d'huile, à basse température. Cette particularité n'est d'ailleurs pas spéciale aux larves de la période hibernale. Nous avons pu constater que des larves appartenant au cycle d'été jouissent de la même aptitude. Certaines larves issues d'une ponte de génération post-hivernale, placées à la glacière en condition immergée sous couche d'huile de vaseline, ont survécu jusqu'à 49 jours.

C. — L'ASTHÉNOBIOSE LARVAIRE HIBERNALE

La plupart des observateurs : GALLI-VALERIO, BLACKLOCK et CARTER, ROUKHADZÉ, ZOLOTNIKOVA, SHAKOW, PAVLOWSKII et MESS, etc. s'accordent pour établir que les larves du moustique sont capables

d'hiverner. Cependant, à côté de ces observations nous en trouvons d'autres, celles d'ECKSTEIN (1920-1922), de PAVLOVSKII et MESS (1931) qui, assimilant notre Anophèle à une Aëdine, croient à une hibernation à l'état d'*œufs*, du moustique, tandis que BLACKLOCK et CARTER (1920) mentionnent la présence en hiver de femelles adultes aptes à piquer.

Il est possible que ces divergences de constatations correspondent à des différences biologiques raciales parmi les représentants de l'espèce. Mais pour le type biologique qui semble le plus habituel, le caractère particulier de l'hibernation larvaire réside, comme nous l'avons dit, dans un phénomène de *diapause spontanée*, indépendante des circonstances extérieures et intervenant obligatoirement dans le cycle annuel normal du moustique.

La véritable hibernation, phénomène nécessaire dans la vie du *plumbeus* que nous avons étudié, survient obligatoirement à l'état de larves pour les raisons que nous allons développer. Si, par exception, certains adultes peuvent être rencontrés en hiver, ce ne sont point là de véritables hivernants, mais des hivernants accidentels, imagos résiduels des générations d'été, ou adultes précoces de la génération d'hiver, qui ne jouent dans le cycle normal de l'espèce qu'un rôle tout à fait secondaire (1).

1° *Les larves issues des pontes de la génération d'arrière-saison n'évoluent que d'une façon excessivement lente, par rapport aux larves de génération post-hivernale, dans des conditions semblables de température et d'alimentation.*

Par exemple, dans les expériences effectuées en 1932, en milieu de macérations végétales et poudre d'algues, à la température du laboratoire, les larves issues de pontes déposées en mai-juin ont évolué en un temps minimum de 22 à 29 jours, de l'œuf à la nymphe; dans les mêmes conditions de température et d'alimentation larvaire, les larves issues d'une ponte effectuée par une femelle d'arrière-saison, le 6 septembre, ont évolué en un temps minimum de 135 jours, et un temps maximum de 271 jours.

Dans des expériences poursuivies en 1933, des larves de génération *post-hivernale*, issues de pontes déposées au milieu de mai, ont évolué en un temps minimum de 19 à 20 jours à la température fraîche de l'extérieur, de 23 à 25 jours à la température du laboratoire (22-25° C.).

Au contraire, des larves issues de pontes *d'arrière-saison*, fin

(1) A la température du laboratoire, d'œufs éclos le 10 septembre 1931 nous avons obtenu, après 135 jours de vie larvaire, quelques adultes en fin janvier 1932, en avance de près d'un mois sur la majorité du lot.

septembre et octobre, même suralimentées à la poudre de rate, ont nécessité un minimum de 161 jours dans les conditions de température du laboratoire et une durée maximum de 226 jours.

Ainsi, dans des conditions analogues de milieu, d'alimentation et de température, les larves de la génération appelée à hiberner ont présenté une évolution spontanément ralentie, de huit à dix fois plus lente que celle des larves des générations d'été. Le cycle de développement larvaire, qui nécessite au moins six mois pour la génération hibernante, se montre spontanément réglé dans l'espèce sur la durée normale de l'hiver, en vertu du phénomène de ralentissement évolutif ou d'asthénobiose qui affecte ces larves. Le maximum observé pour la durée larvaire, au cours de nos recherches, a été de 325 jours à basse température mitigée (pièce froide). GALLI-VALERIO et J. ROCHAZ DE JONG (1913) ont de même mentionné une évolution larvaire d'une durée voisine d'une année pour des larves nées en juillet et conservées à la température du laboratoire.

2° *Les larves hibernant en condition d'asthénobiose ne peuvent être forcées à un développement plus actif, par la chaleur. Elles évoluent mieux au froid qu'à température d'activité.*

Des larves issues de pontes en fin septembre-octobre ont été placées en lots différents à des conditions diverses de température.

Lot A, au froid du dehors, température moyenne inférieure à 16°, avec gel intermittent ;

Lot B, à température du laboratoire (20° C.-22° C.) ;

Lot C, à l'étuve 25°-28° C. continu.

Pour ces différents lots les conditions alimentaires furent semblables, macération d'écorces de chêne + addition journalière de poudre alimentaire (mélange poudre de rate, *protococcus*, amidon).

Les larves du lot A, évoluant à basse température et ayant subi plusieurs jours de gel complet se sont transformées en nymphes dans les limites de temps suivantes : minimum 169 jours, maximum 223 jours, avec une mortalité nulle sur 85 individus.

Les larves du lot B, à température modérée, ont évolué entre un minimum de 161 jours, et un maximum de 226-230 jours.

Les larves du lot C, forcées à une température d'été continue (25°-28° C.) n'ont pas dépassé le 2° ou le 3° stade. Elles sont toutes mortes dans un délai variant de quelques semaines à six ou sept mois, sans parvenir à la nymphose.

Les larves de *plumbeus* hibernant en condition d'asthénobiose cessent donc d'obéir à la règle habituelle de l'accélération thermique. On note seulement un très faible raccourcissement évolutif pour les larves soumises à la température de la chambre, par rapport à celles qui subissent directement le froid extérieur.

D'autres expériences effectuées les années précédentes ont toujours fait ressortir l'inaptitude des larves torpides d'hiver du *plumbeus* à être réactivées par une température supérieure à 25° C., et l'action néfaste pour les larves de cette température prolongée. E. MARTINI, F. MEYER et F. WEYER (1932) signalent également que des larves hibernantes de *plumbeus*, transportées de la température de la chambre (20° C.) à celle de 25° C., ont toutes péri au bout de quelques jours.

3° *Les radiations lumineuses, l'alimentation, le choc hivernal sont sans action sur la diapause.*

Les différentes expériences poursuivies ont également montré que la nature de l'éclairement, pas plus que celle de la nourriture, n'ont d'action sur l'évolution des larves d'hiver. En lumière diffuse, l'évolution s'est avérée aussi lente qu'à la grande lumière. De même les larves nourries du milieu naturel des trous d'arbre, ont évolué de la même manière que celles qui ont été soumises à une suralimentation azotée constante, à l'aide de poudre de rate ou de débris d'insectes. Cette influence alimentaire est nulle pendant la période de torpeur vraie, avant que les larves n'aient été réactivées à la fin de l'hiver par un séjour de plusieurs mois en condition de repos *athermique*. A ce moment elles ont repris l'appétit au développement actif et une alimentation plus riche peut accélérer leur transformation, comme l'a constaté F. W. EDWARDS (1916), à cette période.

Dans nos expériences de 1932-1933 nous sommes toujours partis d'œufs pondus au laboratoire et, dans les élevages conservés à la température du laboratoire, les larves n'ont jamais subi l'influence du froid, susceptible, selon certains auteurs, de déclencher le mécanisme de l'hibernation. du lock

La torpeur hivernale des larves de *plumbeus* est donc un phénomène absolument indépendant des circonstances extérieures. Elle correspond à un phénomène d'asthénie spontanée relevant de causes internes. Sa nature intime est contrôlée par l'épreuve des actions thermiques. Nous constatons en effet que la température d'été, loin d'activer ces larves, amène leur mort; les larves ne sont réactivées et ramenées à l'évolution ultérieure qu'après un long temps de repos à température basse ou peu élevée (athermobiose). Elles obéissent donc à la règle établie par l'un de nous pour les organismes hétérodynamiques ou fatigables, appelés par asthénobiose à la nécessité de subir le repos d'hibernation. Pour ces organismes c'est le froid (détente thermique) qui rétablit l'activité, non la chaleur.

4° *L'asthénobiose larvaire du plumbeus n'affecte pas rigoureusement un stade larvaire déterminé. On observe un ralentissement évolutif à tous les stades, d'importance variable suivant les individus d'une même ponte.*

Alors que le plus souvent les insectes hétérodynames se montrent arrêtés par la diapause à un ou à des stades précis de leur cycle évolutif, toujours les mêmes, les larves asthéniques de *plumbeus* peuvent manifester un ralentissement à tous les stades de leur croissance, mais à des degrés différents suivant les larves. On trouve à la fin de l'hiver des larves à des stades encore très jeunes, dans le même milieu de développement qui renferme des larves au dernier stade. Ces différences de taille correspondent à des différences individuelles d'activité. Lorsque les larves issues d'une même ponte sont élevées dans le même récipient, on voit en effet se différencier dans l'élevage des larves à croissance un peu plus rapide, qui atteignent assez vite les 3^e et 4^e stades pour s'y tenir en diapause pendant des mois, et des larves qui dès le début s'accroissent de façon extrêmement lente et ne parviennent à la nymphose que beaucoup plus tard encore que les précédentes. Il s'établit en quelques semaines une différenciation marquée dans la taille des différentes larves sœurs. Ce phénomène correspond à un degré d'asthénie plus ou moins prononcé suivant les individus, et qu'accroissent peut-être les intoxications de groupement dues aux effets d'un peuplement dense.

D. — CARACTÈRE CYCLIQUE DE L'ASTHÉNOBIOSE HIVERNALE.

DÉMONSTRATION.

Pour établir que la torpeur larvaire d'hiver chez l'*A. plumbeus* obéit au type de l'asthénie cyclique, fixée dans l'espèce pour une génération donnée, nous avons dû entreprendre l'éducation expérimentale en série continue des générations annuelles du moustique.

Aucun auteur ne paraît avoir obtenu jusqu'ici, au laboratoire, la fécondation des femelles de *plumbeus* et la production de pontes fertiles en partant d'imagos nés en élevages-souches, de générations successives. M. ROUKHADZÉ (1926) a bien isolé en cages des femelles de *plumbeus* avec des mâles, et constaté la maturation des ovules, mais toutes ses femelles ont péri sans libérer de pontes fertiles.

Nous avons pu établir que l'*A. plumbeus* est un Anophèle *eurygame*. La fertilisation des femelles de ce moustique par les mâles n'est pas réalisable en cages restreintes, tout au moins pour la souche étudiée. Il est nécessaire, pour obtenir des générations sérieuses, d'utiliser l'artifice de la « chambre de vol » afin de permettre aux moustiques nés des élevages de s'accoupler et de se reproduire.

Grâce au dispositif d'étude réalisé à l'Insectarium, nous avons pu au cours de deux séries d'expériences effectuées en 1931-1932, 1932-1933, constater que, conformément à la théorie, la génération qui procède de la génération asthénique hibernante est active : elle effectue son développement sans arrêt larvaire, en un temps très court, bien que les conditions extérieures au moment de la ponte soient sensiblement les mêmes que pour la génération hibernale ou inactive.

Par exemple : Une femelle du mois d'août 1931 dépose une ponte le 6 septembre. La durée de développement larvaire, à la température du laboratoire, a oscillé entre un minimum de 135 jours, et un maximum de 271 jours. Au froid extérieur mitigé (1) le développement a duré de 230 à 325 jours. Les femelles issues de ce développement hivernal spontanément ralenti, ont déposé des pontes du 23 mai au 20 juin. Le développement larvaire de cette génération posthivernale, dans les mêmes conditions que pour la précédente se montre au contraire actif et s'achève, à la température du laboratoire, en 22-29 jours.

Autre exemple : Des femelles ont pondu au laboratoire en fin septembre et courant octobre 1932. La génération larvaire qui procède de ces pontes est inactive et son développement hivernal s'effectue, à la température du laboratoire, en 162-230 jours.

Les femelles issues de cette génération à larves ralenties s'accouplent et donnent des pontes fertiles du 18 au 28 mai. Les larves de cette génération post-hivernale, éduquées dans les mêmes conditions, se montrent au contraire actives et, à la température du laboratoire, évoluent en 23-25 jours.

Ces faits démontrent la succession spontanée, suivant un cycle établi dans l'espèce, d'une génération affectée d'évolution larvaire torpide et d'une ou plusieurs générations actives douées de développement larvaire rapide.

Nous pensons que dans la nature la souche de *plumbeus* étudiée par nous, souche originaire de Normandie, ne doit pas présenter plus de deux à trois générations dans son cycle annuel.

Ces phénomènes sont-ils constants pour l'espèce envisagée suivant toute l'étendue de son aire géographique ? Les faits observés pour d'autres moustiques, en particulier *Culex pipiens*, *A. maculipennis*, commandent de réserver pour le moment cette affirmation. Il est possible que des différences raciales existent à ce point de vue entre les divers peuplements mondiaux du *plumbeus* et qu'il existe également dans cette espèce des peuplements *infatigables* ou *homody-*

(1) Pièce non chauffée en communication avec l'extérieur.

names, à côté de peuplements typiquement *hétérodynames* ou *fatigables* comme celui que nous venons d'étudier.

Nous développerons ultérieurement dans un mémoire le complément des faits brièvement exposés dans ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- BLACKLOCK et CARTER. — Further experiments with *Anopheles plumbeus* Stephens; its infection with *P. falciparum* in England; also notes on the apparatus and technique employed. *Ann. Trop. Med. Paras.*, 1920, p. 275.
- F. ECKSTEIN. — Die Verbreitung von *Anopheles* in Bayern und ihre Bedeutung für die Einschleppung der Malaria. *Zeits. ang. Ent.*, t. VIII, n° 2, 1922, p. 229.
- F. W. EDWARDS. — Notes on Culicidae with description of new species. *Bull. Ent. Res.*, t. VII, 1916, p. 201.
- B. GALLI-VALERIO. — Beobachtungen über Culiciden. *Centralbl. Bakt.*, t. LXXVIII, 1916; t. LXXIX, 1917.
- B. GALLI-VALERIO et J. ROCHAZ DE JONG. — Beobachtungen über Culiciden. *Centralbl. Bakt.*, t. LXXII, p. 472, 1913.
- E. MARTINI, F. MAYER et F. WEYER. — Ueber die Durchwinterung unserer *Anopheles maculipennis*. *Riv. malar.*, t. XI, 1932, p. 754.
- PAVLOVSKII et MESS. — Biological observations on the blacklegger malaria Mosquitos *Anopheles plumbeus* in the district of the Caucasian Mineral Water-springs. *Mag. Mus. Zoo. Acad. Sc.*, U. R. S. S., 1931, t. I, p. 235.
- E. ROUBAUD. — Sur quelques phénomènes peu connus de la vie des moustiques. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XIX, 1926, p. 257.
- E. ROUBAUD et J. COLAS-BELCOUR. — La torpeur hivernale obligatoire et ses manifestations diverses chez nos moustiques indigènes. *C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXXII, 1926, p. 871.
- E. ROUBAUD et J. COLAS-BELCOUR. — Observations sur la biologie de l'*Anopheles plumbeus*. I. Le comportement larvaire. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XXV, juillet 1932, p. 763.
- N. P. ROUKHADZÉ. — *Anopheles nigripes* Staeg. en Abasie (Géorgie). *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XIX, 1926, p. 337.
- E. D. SHAKOW. — The blacklegger malaria mosquito (*Anopheles plumbeus*) in the Ukraine. *Rev. microb. Epid.*, t. VII, 1, 1928, p. 23.
- I. E. ZOLOTNIKOVA. — Observations on *Anopheles plumbeus* in Sukhum. *Nachr. Trop. Med.*, t. II, n° 7, sept. 1929, p. 505.